



**Cláudia Marisa
Barreiros Neves**

Oxidação Biomimética de Fármacos



**Cláudia Marisa
Barreiros Neves**

Oxidação Biomimética de Fármacos

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Mário Manuel Quialheiro Simões e da Doutora Maria da Graça de Pinho Morgado Silva Neves, respectivamente professor auxiliar e professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro.

Dedico este trabalho

Aos meus pais e à minha irmã

Ao Orlando – “Pega-me a tua escarlatina”

“Somos do tamanho dos nossos sonhos”
Fernando Pessoa

o júri

presidente

Doutor Artur Manuel Soares da Silva
Professor Catedrático da Universidade de Aveiro

Doutora Susana Luísa Henriques Rebelo
Investigadora Auxiliar do Requite – Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Doutora Maria da Graça de Pinho Morgado Silva Neves
Professora Associada com Agregação da Universidade de Aveiro

Doutor Mário Manuel Quialheiro Simões
Professor auxiliar da Universidade de Aveiro

agradecimentos

Este trabalho não teria sido possível sem a ajuda de um considerável número de pessoas a quem eu gostaria de expressar os meus sinceros agradecimentos.

Aos meus orientadores, Doutora Graça Neves e Doutor Mário Simões pela preocupação e acompanhamento sempre disponibilizados, por me fazerem sentir que durante este percurso académico não me encontrava sozinha, bem como pelo conhecimento científico, críticas, correcções e sugestões, ao longo deste trabalho.

Ao Professor Doutor Artur Silva pela ajuda prestada na interpretação dos espectros de RMN.

Ao Doutor Fernando Domingues pelo apoio prestado e conhecimentos transmitidos na técnica de HPLC. À Doutora Mónica Válega pelo acompanhamento no HPLC na última fase deste trabalho.

À Doutora Isabel Vieira por toda a disponibilidade e pela cooperação no GC e no GC-MS.

À Doutora Ana Fernandes e à Doutora Graça Marques por toda a ajuda na elaboração das propostas mecanísticas de fragmentação em espectrometria de massa.

Ao Doutor Filipe Paz pela elucidação da estrutura de um dos produtos de oxidação da cafeína.

À Dra Fátima Condesso, à D. Idília pelo apoio no laboratório e ao Dr Hilário Tavares pela disponibilidade na obtenção de espectros de RMN.

A todos aqueles que partilharam comigo os seus conhecimentos. À Sónia e ao Rodrigo por toda a ajuda e sugestões. À minha companheira de bancada, Filipa, pelo espírito de entreajuda. Às minhas amigas que me têm acompanhado desde o primeiro ano de licenciatura.

Ao meus pais e à minha irmã, pelo apoio incondicional e presença constante em todas as decisões que tenho tomado.

Ao Orlando por todas as palavras de incentivo, por acreditar em mim, por ser sempre o primeiro, por me fazer sorrir mesmo nas situações mais difíceis, por ser o meu porto de abrigo.

palavras-chave

Catálise biomimética, metaloporfirinas, fármacos, metabolismo, peróxido de hidrogénio, oxidação.

resumo

A catálise aplicada às reacções de oxidação constitui actualmente um assunto de extrema importância em Química Orgânica. Nos últimos anos têm sido feitos grandes esforços para encontrar catalisadores capazes de mimetizar os processos metabólicos. As metaloporfirinas têm demonstrado ser bons modelos do citocromo P450, principal responsável pelo metabolismo dos fármacos e de outros xenobióticos nos sistemas biológicos.

O trabalho desenvolvido e apresentado nesta dissertação teve como objectivo a síntese de metaloporfirinas e posterior utilização em catálise oxidativa de fármacos.

No capítulo 1 são apresentados os vários métodos descritos para a síntese de porfirinas e a sua aplicação como modelos biomiméticos. Neste capítulo faz-se ainda uma abordagem ao citocromo P450 e ao seu mecanismo de acção.

No capítulo 2 são descritos os métodos usados para a síntese da *meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina e da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina, bem como dos seus complexos de manganês, catalisadores porfíricos usados neste trabalho.

No capítulo 3 são apresentados os resultados da oxidação catalítica da carbamazepina e da cafeína usando os catalisadores porfíricos sintetizados. Os processos oxidativos foram monitorizados por técnicas cromatográficas, nomeadamente TLC, GC, GC-MS e HPLC. A caracterização estrutural dos produtos de oxidação foi realizada com o auxílio das técnicas de RMN, espectrometria de massa e cristalografia de raios-X.

keywords

Biomimetic catalysis, metalloporphyrins, drugs, metabolism, hydrogen peroxide, oxidation.

abstract

Oxidative catalysis is currently a matter of great importance in Organic Chemistry. In the last few years many efforts have been made to find catalysts that can mimic the metabolic processes. Metalloporphyrins have shown to be good models for cytochrome P450 enzymes, the first responsible for the metabolism of drugs and other xenobiotics in biological systems. The work developed and presented in this dissertation concerns to the synthesis of metalloporphyrins and subsequent use in the oxidative catalysis of drugs.

The various methods for the synthesis of porphyrins and their application as biomimetic models are presented in chapter 1. In this chapter an approach to cytochrome P450 and its mechanism of action is also made.

In Chapter 2, the methods used for the synthesis of *meso*-tetrakis(2,6-dichlorophenyl)porphyrin and *meso*-tetrakis(pentafluorophenyl)porphyrin and its manganese complexes are presented.

In Chapter 3, the results of the catalytic oxidation of carbamazepine and caffeine are described, using the porphyrin catalysts synthesized. The oxidation processes were monitored by chromatographic techniques, including TLC, GC, GC-MS and HPLC. Structural characterization of the oxidation products was performed using NMR, mass spectrometry and X-ray crystallography techniques.

ÍNDICE

Índice de Figuras.....	iii
Índice de Tabelas	v
Abreviaturas	vii
Capítulo 1	1
1 Introdução	3
1.1 Macro ciclos tetrapirrólicos.....	3
1.1.1 Nomenclatura	5
1.1.2 Principais propriedades físico-químicas das porfirinas	6
1.1.2.1 Espectroscopia de RMN de próton.....	7
1.1.2.2 Espectrofotometria de UV-Vis	7
1.1.3. Métodos de síntese de porfirinas	10
1.1.3.1 Porphirinas meso-substituídas.....	11
1.1.4 Aplicações de porfirinas.....	16
1.2 Catálise biomimética oxidativa	17
1.2.1. Princípios de Catálise	18
1.2.2 Peróxido de hidrogénio como oxidante	20
1.2.3 Eficiência do catalisador	20
1.3 O citocromo P450	22
1.3.1 Reacções catalisadas pelo citocromo P450	23
1.3.2 Ciclo catalítico do citocromo P450.....	25
1.4 Metaloporfirinas como modelos biomiméticos do citocromo P450	27
Capítulo 2	31
2 Síntese dos catalisadores porfirínicos	33

2.1	Síntese dos núcleos livres dos catalisadores	33
2.1.1	<i>meso</i> -Tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (3)	33
2.1.2	<i>meso</i> -Tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (4)	35
2.2	Síntese dos complexos de manganês.....	39
2.2.1	Cloro[<i>meso</i> -tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês (III) (1)	39
2.2.2	Cloro[<i>meso</i> -tetraquis(pentafluorofenil)porfirinato]manganês (III) (2)	40
2.3	Parte Experimental	42
2.3.1	Síntese dos núcleos livres dos catalisadores	43
2.3.1.1	<i>meso</i> -Tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (3) -----	43
2.3.1.2	<i>meso</i> -Tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (4) -----	43
2.3.2	Obtenção dos complexos de manganês	44
2.3.2.1	Cloro[<i>meso</i> -tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês (III) (1) ----	44
2.3.2.2	Cloro[<i>meso</i> -tetraquis(pentafluorofenil)porfirinato]manganês (III) (2) ---	45
Capítulo 3	47
3	Estudos de oxidação catalisada por metaloporfirinas	49
3.1	Oxidação do <i>cis</i> -cicloocteno (5)	50
3.2	Oxidação da carbamazepina (6)	51
3.3	Oxidação da cafeína (7)	61
3.4	Parte experimental.....	89
3.4.1	Oxidação do <i>cis</i> -cicloocteno (5)	90
3.4.2	Oxidação da carbamazepina (6)	91
3.4.3	Oxidação da cafeína (7)	92
3.4.4	Síntese da imidazolidina (13) a partir do ácido dimetilparabânico (10)	95
3.5	Considerações finais.....	95
Referências Bibliográficas	95

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura de um núcleo porfirínico.	3
Figura 2: Exemplos de macrociclos tetrapirrólicos naturais	4
Figura 3: Numeração proposta por Fischer para a nomenclatura de macrociclos tetrapirrólicos.....	5
Figura 4: Numeração proposta pela IUPAC para a nomenclatura de macrociclos tetrapirrólicos.....	5
Figura 5: Derivados reduzidos do macrociclo porfirínico.	6
Figura 6: Espectros de UV-Vis de porfirinas do tipo “ <i>etio</i> ” à esquerda e do tipo “ <i>rhodo</i> ” à direita, evidenciando apenas a zona das bandas Q.	8
Figura 7: Espectros de UV-Vis de porfirinas do tipo “ <i>oxo-rhodo</i> ” à esquerda e do tipo “ <i>phyllo</i> ” à direita, evidenciando apenas a zona das bandas Q.....	9
Figura 8: Espectro de UV-Vis típico para derivados reduzidos do tipo clorina, evidenciando apenas a zona das bandas Q.	9
Figura 9: Espectros de UV-Vis típicos de metaloporfirinas, evidenciando apenas a zona das bandas Q.....	10
Figura 10: Diagrama de energia de uma reacção catalisada e de uma reacção não catalisada.	19
Figura 11: Representação do centro activo do citocromo P-450.....	22
Figura 12: Representação do ciclo catalítico do citocromo P450.....	25
Figura 13: Estruturas dos catalisadores porfirínicos usados nos estudos de oxidação.	30
Figura 14: Espectro de UV-Vis da <i>meso</i> -tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (3), no final da reacção.....	34
Figura 15: Espectro de RMN de ¹ H da <i>meso</i> -tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (3).....	35
Figura 16: Espectro de UV-Vis da <i>meso</i> -tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (4).....	36
Figura 17: Espectro de RMN de ¹ H da <i>meso</i> -tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (4).....	37
Figura 18: Espectro de RMN de ¹⁹ F da <i>meso</i> -tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (4).....	38
Figura 19: Espectro de UV-Vis da Mn(TDCPP)Cl (1).....	40
Figura 20: Espectro de UV-Vis da Mn(TPFPP)Cl (2).....	41
Figura 21: Estruturas dos substratos usados nos estudos de oxidação.....	49
Figura 22: Evolução da oxidação do <i>cis</i> -cicloocteno acompanhada por GC, catalisada por Mn(TDCPP)Cl.....	50
Figura 23: Representação da conversão do <i>cis</i> -cicloocteno no 1,2-epoxiciclooctano ao longo do tempo.	51

Figura 24: Espectro de UV-Vis do catalisador Mn(TDCPP)Cl antes e depois da reacção de oxidação para a razão molar substrato/catalisador 150.	54
Figura 25: Espectro de UV-Vis do catalisador Mn(TPFPP)Cl antes e depois do fim da reacção de oxidação para a razão molar substrato/catalisador 150.	54
Figura 26: Espectro de RMN de ^1H da carbamazepina (6).	56
Figura 27: Espectro de RMN de ^1H do epóxido (9).	57
Figura 28: Cromatograma da mistura reaccional antes de iniciada a reacção, por adição de H_2O_2	58
Figura 29: Cromatograma da mistura reaccional após 45 minutos de reacção de oxidação catalisada pelo complexo Mn(TDCPP)Cl.	58
Figura 30: Cromatograma da mistura reaccional no final da reacção de oxidação catalisada pelo complexo Mn(TDCPP)Cl.	58
Figura 31: Representação da conversão da carbamazepina no respectivo epóxido ao longo do tempo para a razão molar substrato/catalisador 150, quando é usado o catalisador Mn(TDCPP)Cl.	60
Figura 32: Influência da quantidade do catalisador Mn(TDCPP)Cl no tempo de reacção na oxidação da carbamazepina (6).	60
Figura 33: Influência da quantidade do catalisador Mn(TPFPP)Cl na conversão da carbamazepina (6).	61
Figura 34: Principais metabolitos da cafeína.	62
Figura 35: Cromatograma de GC-MS da mistura reaccional após 6 h para a reacção de oxidação da cafeína catalisada pelo complexo Mn(TPFPP)Cl.	65
Figura 36: Cromatograma de GC-MS da mistura reaccional após 7 h para a reacção de oxidação da cafeína catalisada pelo complexo Mn(TDCPP)Cl.	65
Figura 37: Representação da conversão da cafeína ao longo do tempo para as três razões molares substrato/catalisador estudadas, usando o catalisador Mn(TDCPP)Cl.	66
Figura 38: Representação da conversão da cafeína ao longo do tempo para as três razões molares substrato/catalisador estudadas, usando o catalisador Mn(TPFPP)Cl.	67
Figura 39: Espectro de RMN de ^1H do ácido dimetilparabânico (10).	68
Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido dimetilparabânico (10).	69
Figura 41: Espectro de massa do ácido dimetilparabânico (10).	69
Figura 42: Espectro de RMN de ^1H do composto (13), contaminado com o composto (10).	73
Figura 43: Ampliação da zona alifática do espectro de RMN de ^{13}C do composto (13), contaminado com o composto (10).	74
Figura 44: Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C do composto (13), contaminado com o composto (10).	74
Figura 45: Ampliação do espectro bidimensional de HMBC para o composto (13), contaminado com o composto (10).	75

Figura 46: Espectro de massa do composto (13).	76
Figura 47: Estrutura obtida por cristalografia de raios-X do composto espiro (14).	78
Figura 48: Espectro de RMN ^1H do composto (14).	79
Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C do composto (14).	80
Figura 50 Ampliação do espectro bidimensional de HSQC para o composto espiro (14).	80
Figura 51: Ampliação do espectro bidimensional de HMBC para o composto espiro (14).	81
Figura 52: Espectro de massa do composto (14).	82
Figura 53: Espectro de massa do composto (12).	86

Índice de Tabelas

Tabela 1: Condições reaccionais inicialmente usadas nos estudos de oxidação.	49
Tabela 2: Resultados dos estudos com diferentes catalisadores e dois tipos de oxidantes, PhIO e H_2O_2 .	53
Tabela 3: Resultados obtidos na oxidação da carbamazepina (6) com H_2O_2 catalisada pelos complexos $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$ e $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$.	59
Tabela 4: Resultados obtidos na oxidação da cafeína com H_2O_2 catalisada pelos complexos $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$ e $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$.	66
Tabela 5: Programa de temperatura do cromatógrafo de gás para a análise da reacção de oxidação do <i>cis</i> -cicloocteno.	91
Tabela 6: Programa de temperatura do cromatógrafo de gás para análise da reacção de oxidação da cafeína.	93

Abreviaturas

Ar	Arilo
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DDQ	2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMPA	Ácido dimetilparabânico, do inglês “dimethyl parabanic acid”
E _a	Energia de ativação
EM	Espectrometria de massa
eq.	Equivalentes molares
GC	Cromatografia gasosa
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa
H ₂ TDCPP	<i>meso</i> -Tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina
H ₂ TMP	<i>meso</i> -Tetrametilporfirina
H ₂ TPFPP	<i>meso</i> -Tetraquis(pentafluorofenil)porfirina
H ₂ TPP	<i>meso</i> -Tetrafenilporfirina
HMBC	Correlação espectroscópica heteronuclear a longa distância
HSQC	Correlação espectroscópica heteronuclear
HOMO	Orbital molecular ocupada de mais alta energia
HPLC	“High-performance liquid chromatography”
IUPAC	“Internacional Union of Pure and Applied Chemistry”
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em hertz)
m	Multiplete
<i>m/z</i>	Relação massa/carga

M ⁺	Ião molecular
MW	Microondas, do inglês “microwaves”
nm	Nanómetros
PDT	Terapia fotodinâmica, do inglês “photodynamic therapy”
PhIO	Iodosilbenzeno
ppm	Partes por milhão
PS	Fotossensibilizador, do inglês “photosensitizer”
RMN ¹⁹ F	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de flúor
RMN ¹ H	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton
s	Singuleto
t	Tripleto
TFA	Ácido trifluoracético, do inglês “trifluoroacetic acid”
THF	Tetra-hidrofurano
TLC	Cromatografia de camada fina, do inglês “thin layer chromatography”
TOF	Frequência do número de “turnover” – número de “turnover” por unidade de tempo (em segundos)
TON	Número de “turnover” – nº de moles de produto(s) / nº de moles de catalisador
UV-Vis	Espectrofotometria de ultravioleta-visível
δ	Desvio químico (em ppm)
λ	Comprimento de onda (em nm)

Capítulo 1

Introdução

1 Introdução

1.1 Macrociclos tetrapirrólicos

Os macrociclos tetrapirrólicos têm ocorrência natural tanto no reino vegetal como no reino animal, participando em funções vitais como a do transporte de oxigénio, fotossíntese, transferência de electrões ou a eliminação de fármacos e outros xenobióticos.¹

As porfirinas apresentam um núcleo base, constituído por quatro anéis pirrólicos unidos entre si por unidades de carbono sp^2 (Figura 1).^{1,2}

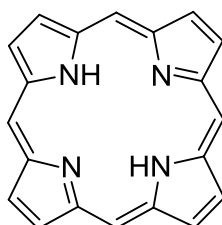


Figura 1: Estrutura de um núcleo porfirínico.

Por exemplo, na respiração estão envolvidas hemoproteínas, como a hemoglobina e a mioglobina, que possuem um ou mais grupos heme – complexo de ferro da protoporfirina IX (Figura 2) – ligados à sua cadeia polipeptídica e são responsáveis, respectivamente pelo transporte e armazenamento do oxigénio molecular nos animais. Na fotossíntese os macrociclos envolvidos podem ser do tipo clorina, macrociclos com uma unidade pirrólica reduzida como é o caso das clorofilas a e b, ou do tipo bacterioclorina com duas unidades pirrólicas reduzidas como é o caso da bacterioclorofila a (Figura 2).^{2,3}

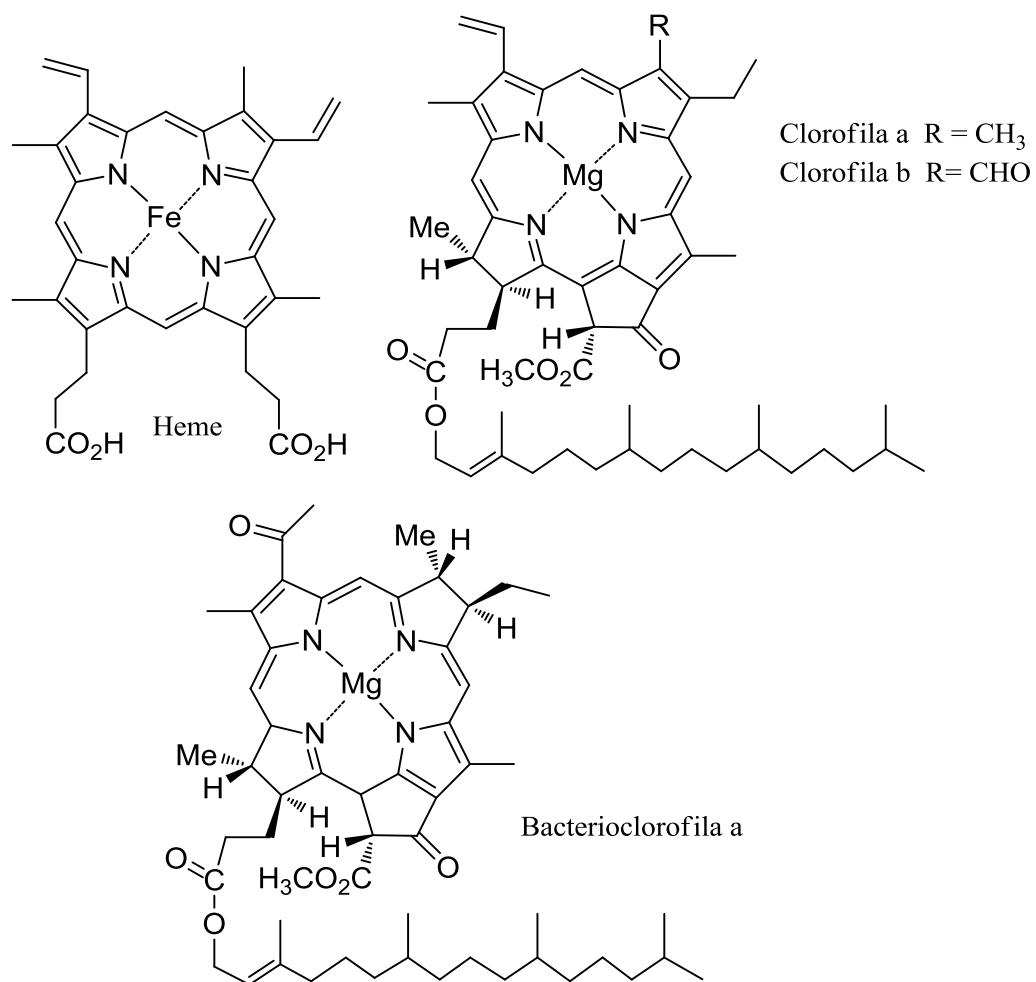


Figura 2: Exemplos de macrociclos tetrapirrólicos naturais

1.1.1 Nomenclatura

A nomenclatura dos macrociclos tetrapirrólicos pode realizar-se, normalmente, segundo dois sistemas: a nomenclatura descrita por Hans Fischer e a nomenclatura recomendada pela IUPAC.¹⁻³

A nomenclatura proposta por Fischer consiste em designar os 4 anéis pirrólicos pelas letras A, B, C e D e os quatro carbonos das pontes metínicas, também designados carbonos das posições *meso*, pelas letras gregas α , β , γ e δ . Os carbonos β -pirrólicos são numerados de 1 a 8 (Figura 3).¹⁻³

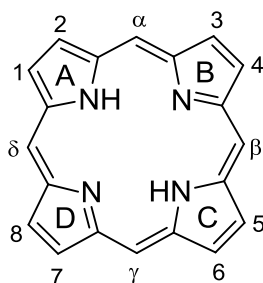


Figura 3: Numeração proposta por Fischer para a nomenclatura de macrociclos tetrapirrólicos.

No caso da nomenclatura recomendada pela IUPAC todos os átomos de carbono e de azoto do macrociclo são numerados de 1 a 24 (Figura 4).¹⁻³

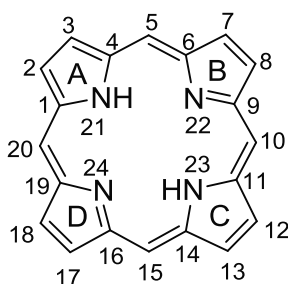


Figura 4: Numeração proposta pela IUPAC para a nomenclatura de macrociclos tetrapirrólicos.

No presente trabalho seguiu-se a nomenclatura vulgar, em que as posições 5, 10, 15 e 20 do macrociclo porfirínico foram designadas posições *meso* e os carbonos e protões das

posições 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17 e 18 tomaram a designação de protões e carbonos β -pirrólicos.

1.1.2 Principais propriedades físico-químicas das porfirinas

Das propriedades exibidas pelas porfirinas é de destacar a sua aromaticidade. As porfirinas apresentam 22 electrões π deslocalizados, estando apenas 18 desses electrões a contribuir para o carácter aromático do macrociclo. Desta forma, a porfirina pode sofrer uma ou duas reduções sem perder o seu carácter aromático. Quando a porfirina sofre uma redução gera um novo macrociclo tetrapirrólico designado por clorina. Quando a porfirina sofre duas reduções, toma a designação de bacterioclorina se a redução ocorrer em anéis pirrólicos opostos, ou de isobacterioclorina se a redução ocorrer em anéis pirrólicos adjacentes (Figura 5).^{1,2}

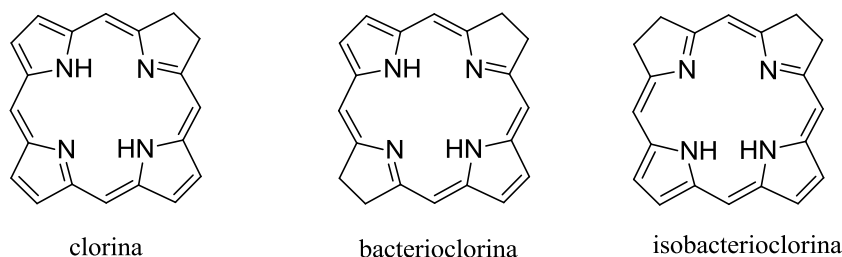


Figura 5: Derivados reduzidos do macrociclo porfirínico.

O elevado calor de combustão, a estrutura planar do macrociclo e a participação em reacções típicas de compostos aromáticos comprovam também o carácter aromático destes compostos. Como compostos aromáticos, as porfirinas participam em reacções de substituição aromática electrofílica.¹⁻³ Nas porfirinas a reactividade das posições *meso* e das posições β -pirrólicas depende da deslocalização da densidade electrónica do macrociclo.¹⁻³

1.1.2.1 Espectroscopia de RMN de protão

Os espectros de RMN de ^1H comprovam mais uma vez a aromaticidade destes compostos. Os sinais correspondentes à ressonância dos protões internos surgem, normalmente para campos muito altos, à direita do TMS (δ entre -2 e -3 ppm), enquanto que os dos protões periféricos, *meso* e β -pirrólicos surgem para campos mais baixos (δ a 10-11 ppm e 8-9 ppm, respectivamente). Esta grande diferença entre os valores dos desvios químicos dos protões internos (-NH) e os dos periféricos deve-se ao elevado efeito de anisotropia magnética que resulta do fluxo da corrente electrónica à volta do anel. Nas clorinas e bacterioclorinas o efeito de anisotropia é menos pronunciado, porque a deslocalização electrónica é menor, e por isso os sinais dos protões internos surgem com maiores valores de desvio químico e os sinais dos protões periféricos surgem com valores de desvios químicos menores. No caso das isobacterioclorinas o efeito da diminuição do fluxo electrónico é muito mais acentuado.^{2,4,5}

1.1.2.2 Espectrofotometria de UV-Vis

Os macrociclos tetrapirrólicos são compostos com elevada conjugação e, por esse motivo, são fortemente corados. Esta propriedade é uma das principais características desta classe de compostos, porque os diferentes membros apresentam espectros de absorção típicos, podendo assim ser facilmente identificados por espectrofotometria de UV-Vis.¹

O espectro de absorção típico das porfirinas apresenta uma banda de absorção de grande intensidade por volta dos 420 nm, que é designada de banda Soret, e ainda quatro bandas (I, II, III, IV) entre os 500-650 nm, denominadas bandas Q (Figuras 6 e 7). A banda Soret está relacionada com a deslocalização dos 18 electrões π , sendo por isso comum a todos os macrociclos.^{1,5}

A posição e a intensidade das bandas Q permitem facilmente distinguir os diferentes derivados tetrapirrólicos. Por exemplo, a intensidade das bandas Q é alterada de acordo com os grupos substituintes na porfirina.¹

Quando as intensidades das bandas são tais que $IV > III > II > I$, diz-se que estamos perante um espectro do tipo “*etio*”, correspondente a porfirinas cujas posições β apresentam grupos substituintes que não são sacadores de electrões (etio-porfirinas), como é representado na Figura 6, à esquerda.¹

Quando as porfirinas possuem grupos substituintes com electrões π , como por exemplo grupos sacadores de electrões como o grupo carbonilo ou o grupo vinilo, a intensidade das bandas Q tende a ser do tipo $III > IV > II > I$ e diz-se que estamos perante um espectro do tipo “*rhodo*”, porque este tipo de substituintes desloca as bandas para a região do vermelho do espectro (Figura 6 à direita). Quando esses grupos sacadores de electrões estão em posições opostas, obtém-se um espectro do tipo “*oxo-rhodo*”, em que as intensidades das bandas Q passam agora a ser $III > II > IV > I$ (Figura 7, à esquerda). Quando $IV > II > III > I$ temos um espectro do tipo “*phyllo*”.^{1,2}

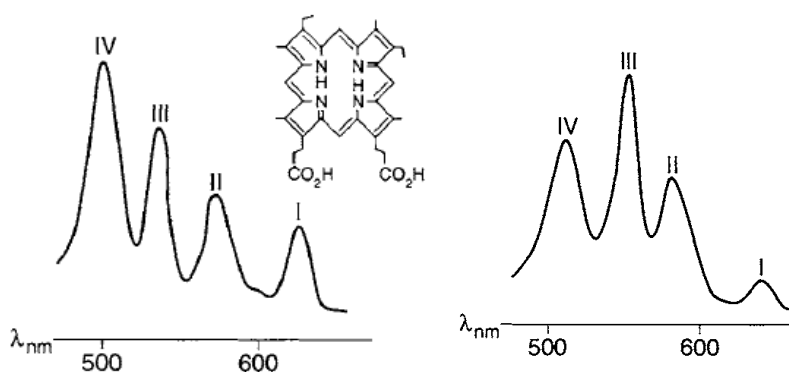


Figura 6: Espectros de UV-Vis de porfirinas do tipo “*etio*” à esquerda e do tipo “*rhodo*” à direita, evidenciando apenas a zona das bandas Q.

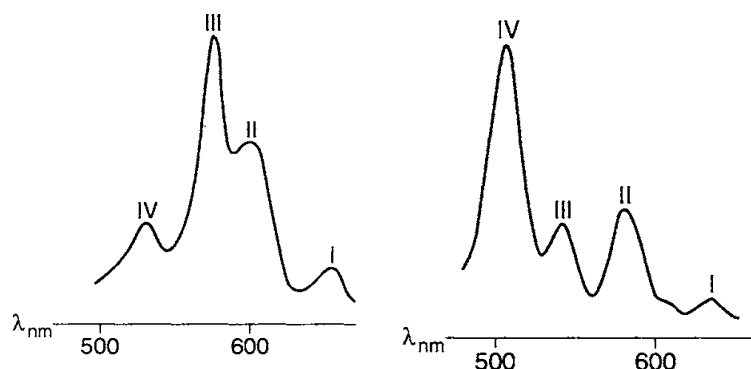


Figura 7: Espectros de UV-Vis de porfirinas do tipo “*oxo-rhodo*” à esquerda e do tipo “*phyllo*” à direita, evidenciando apenas a zona das bandas Q.

Os derivados reduzidos do tipo clorina apresentam uma banda Q na região dos 650 nm mais intensa do que as restantes (Figura 8).¹

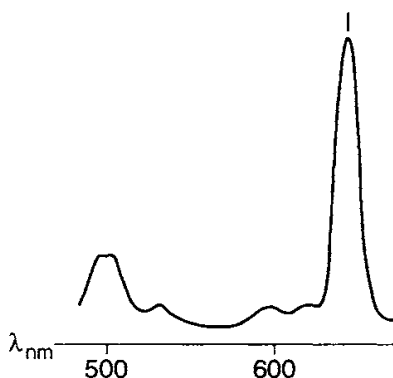


Figura 8: Espectro de UV-Vis típico para derivados reduzidos do tipo clorina, evidenciando apenas a zona das bandas Q.

No caso das metaloporfirinas o espectro na zona das bandas Q consiste em apenas duas bandas, normalmente designadas por bandas α e β . A relação entre a intensidade destas bandas dá-nos uma medida da estabilidade do complexo metálico (Figura 9).² Quando temos complexos metálicos de β -octa-alkilporfirinas, a banda α apresenta maior intensidade que a banda β . No caso dos complexos metálicos de meso-tetra-arilporfirinas, a intensidade da banda β é superior à da banda α .^{1,2,6}

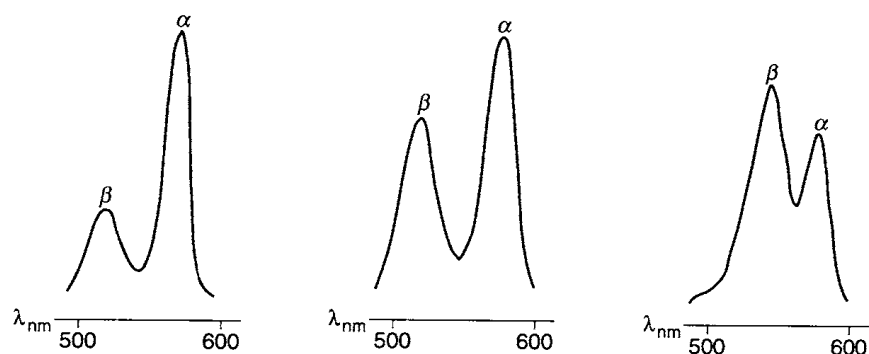


Figura 9: Espectros de UV-Vis típicos de metaloporfirinas, evidenciando apenas a zona das bandas Q.

1.1.3. Métodos de síntese de porfirinas

Dadas as suas grandes aplicações e potencialidades, as porfirinas têm sido objecto de estudo por parte de muitos investigadores. Por esse motivo, têm sido feitos grandes esforços no sentido de se encontrarem rotas de síntese eficientes.^{7,8}

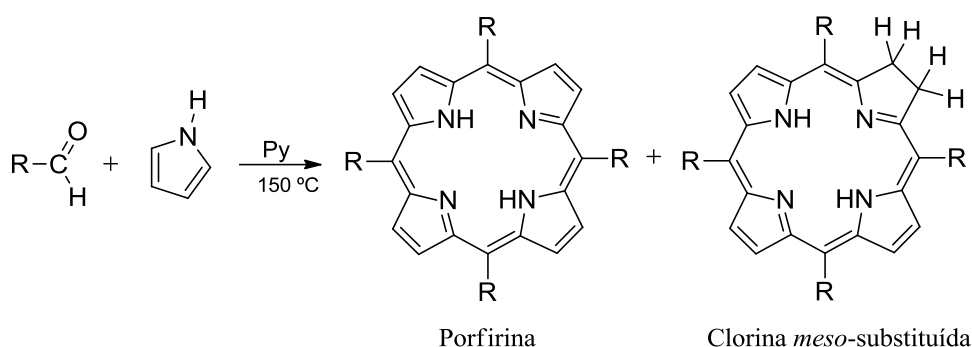
Existem diversos métodos de síntese de porfirinas. No entanto, de forma geral, todos esses métodos têm por base reacções de condensação entre aldeídos e pirróis (ou dipirrometanos e outros precursores similares) sob condições ácidas, seguindo-se a respectiva oxidação do porfirinogéneo.^{7,8}

No presente trabalho, foram sintetizadas *meso*-tetra-arilporfirinas e os correspondentes complexos de manganês por serem descritos na literatura como catalisadores eficientes. Seguidamente, irão ser abordados de forma mais exhaustiva os métodos de síntese de porfirinas *meso*-substituídas.

1.1.3.1 Porfirinas meso-substituídas

Um dos métodos mais utilizados na síntese de porfirinas *meso*-substituídas consiste na reacção de pirróis com aldeídos alifáticos ou aromáticos. Os substituintes das posições *meso* podem ser todos iguais, obtendo-se porfirinas simétricas, ou diferentes, obtendo-se porfirinas assimétricas. Neste trabalho foram sintetizadas apenas porfirinas simétricas.

A primeira síntese de porfirinas *meso*-substituídas foi realizada por Rothemund e colaboradores na década de trinta do século passado. Rothemund levou a cabo a síntese da *meso*-tetrametilporfirina, (H₂TMP), recorrendo a uma condensação entre o acetaldeído e o pirrol em piridina à temperatura de 150 °C, durante 24 horas e em condições anaeróbias. O mesmo autor procedeu também à síntese de outras porfirinas por este método, como a *meso*-tetrafenilporfirina (H₂TPP); porém, as condições utilizadas conduziam sempre a rendimentos muito baixos para este tipo de porfirinas *meso*-substituídas (Esquema 1).⁹

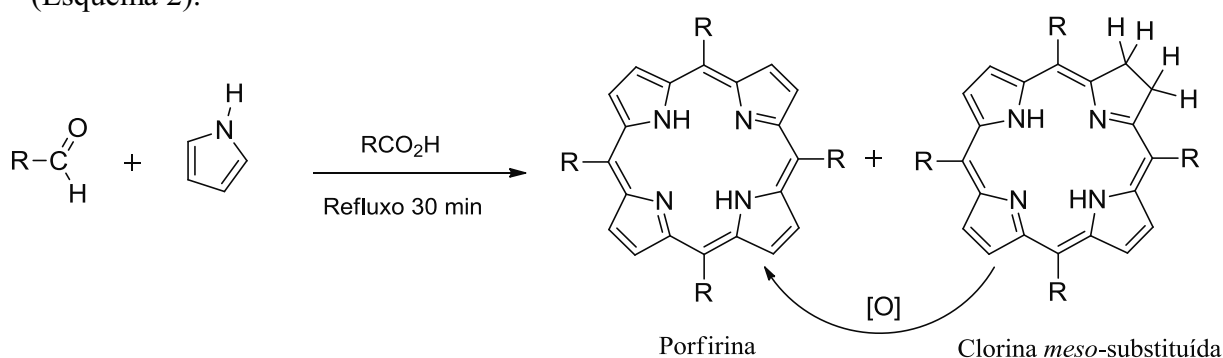


Esquema 1

Verificou-se a existência de uma segunda substância porfirínica na proporção de 10-20% relativamente à porfirina. A separação cromatográfica do contaminante mostrou tratar-se da respectiva clorina *meso*-substituída.⁹

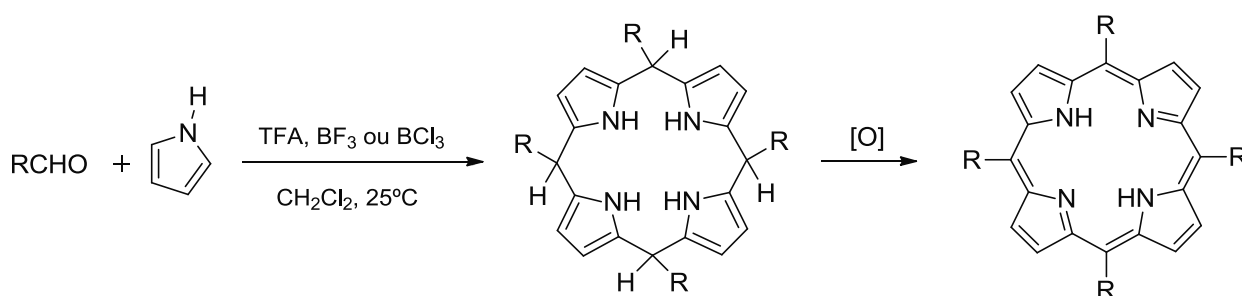
A evolução dos processos de síntese deste tipo de porfirinas registou a introdução progressiva de condições cada vez mais vantajosas, nomeadamente a catálise ácida e a utilização de um oxidante adequado que permitisse a completa oxidação do porfirinogénio a porfirina e, conseqüentemente, a obtenção desta última sem contaminações da respectiva clorina, cuja separação por métodos cromatográficos se revela particularmente difícil.

Adler e Longo¹⁰ implementaram algumas alterações ao método de Rothemund, realizando a reacção em meio ácido e na presença de oxigénio. Com este procedimento, alcançaram rendimentos melhores quando comparados com os obtidos pelo método de Rothemund (Esquema 2). No entanto, tal como no caso do método de Rothemund, a porfirina *meso*-substituída encontrava-se contaminada com a clorina.¹⁰ A mistura obtida, porfirina/clorina, pode depois ser tratada com 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ), permitindo assim a conversão da clorina na porfirina correspondente (Esquema 2).¹¹



Esquema 2

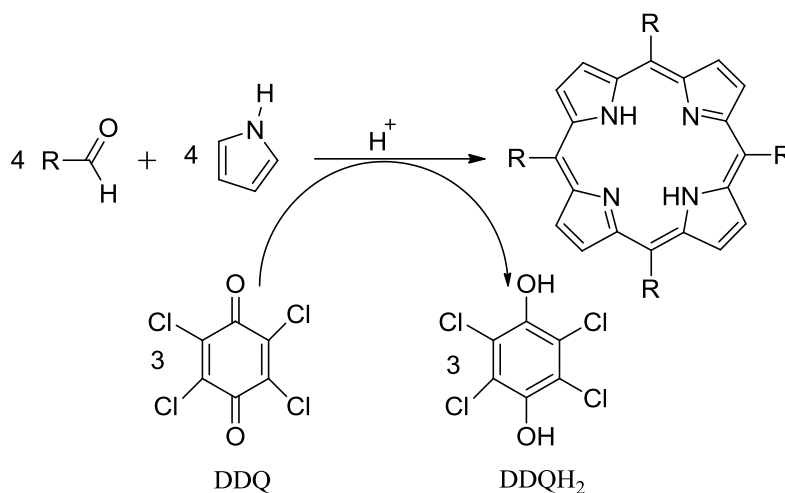
Gonsalves *et al.*¹² e Lindsey *et al.*¹³ desenvolveram um outro método de síntese de *meso*-tetra-arilporfirinas em duas etapas, passando pelo intermediário *meso*-tetra-arilporfirinogénico (Esquema 3). Este método consiste na reacção do pirrol com o aldeído em diclorometano na presença de um catalisador ácido (TFA, BF₃ ou BCl₃) à temperatura ambiente e sob atmosfera de azoto. Depois da condensação do pirrol com o aldeído, dá-se a oxidação do porfirinogénico que se forma, com DDQ ou com *p*-cloranil, originando a correspondente porfirina.¹¹



Esquema 3

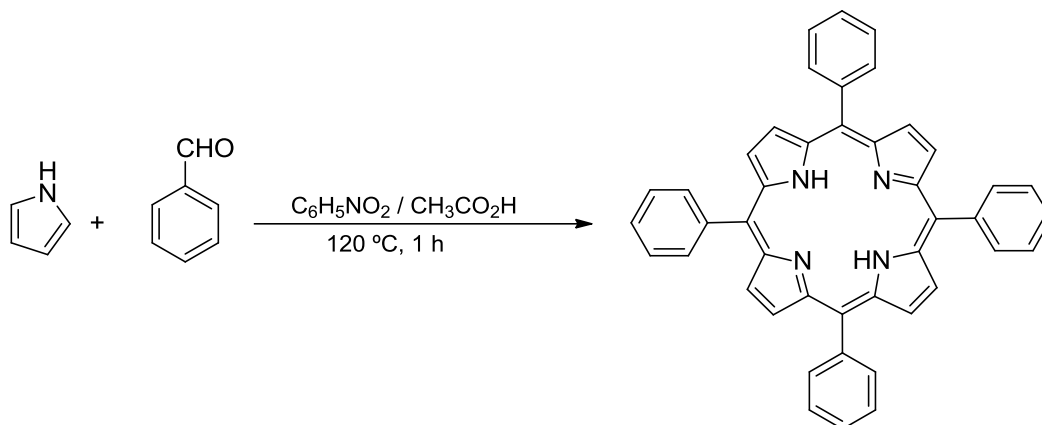
Sintetizar porfirinas num único passo evitando o processo cromatográfico é de todo o interesse, principalmente quando se pretende preparar porfirinas em quantidades consideráveis.

Lindsey tentou promover a síntese de porfirinas *meso*-substituídas num único passo.¹⁴ Para isso, o aldeído, o pirrol, o ácido e o oxidante foram combinados ao mesmo tempo em diclorometano e à temperatura de 25 °C (Esquema 4). Contudo, chegou-se à conclusão que este método não conduzia a melhores resultados, antes pelo contrário, obtinham-se menores rendimentos do que aqueles que se obtinham pela síntese em dois passos.¹⁴



Esquema 4

Em 1991, Gonsalves *et al.*,¹⁵ descreveram que usando uma mistura de nitrobenzeno/ácido acético é possível obter, num único passo, a porfirina pretendida (Esquema 5).



Esquema 5

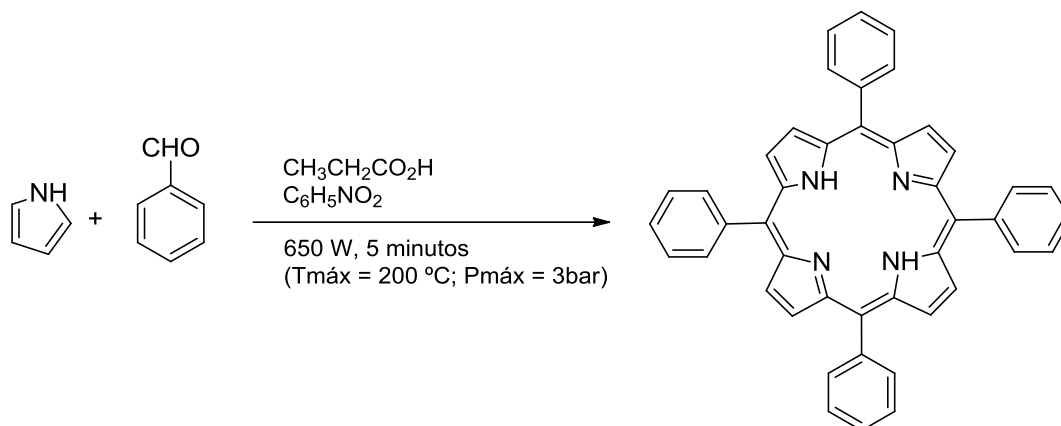
De facto, a utilização do nitrobenzeno trouxe algumas vantagens:

- permitiu sintetizar porfirinas com substituintes aromáticos nas posições *meso* com melhores rendimentos;
- não necessita do emprego de quinonas, de custos elevados, pois o nitobenzeno como agente oxidante permite directamente a oxidação do porfirinogénio à respectiva porfirina;
- muitas porfirinas cristalizam directamente na mistura ácido acético/nitrobenzeno;
- permitiu sintetizar com sucesso e num único passo muitas porfirinas que antes requeriam dois passos.

Ainda hoje continua a procura de métodos mais eficientes e rápidos na síntese de porfirinas. A irradiação de microondas como forma de aquecimento tem sido cada vez mais utilizada em síntese orgânica. Os resultados conseguidos com a aplicação deste método, nomeadamente a diminuição do tempo de reacção e o aumento do rendimento da síntese, tornam o uso da radiação microondas uma alternativa eficaz ao método de aquecimento clássico. Consequentemente, muitos investigadores começaram a utilizá-la na síntese de porfirinas.¹⁶⁻¹⁹

Em 2001, Chauhan e colaboradores referiram a síntese de porfirinas *meso*-substituídas através da utilização da irradiação de microondas, com um aparelho doméstico. Os rendimentos foram idênticos aos obtidos por aquecimento convencional tendo-se reduzido drasticamente o tempo de síntese.²⁰

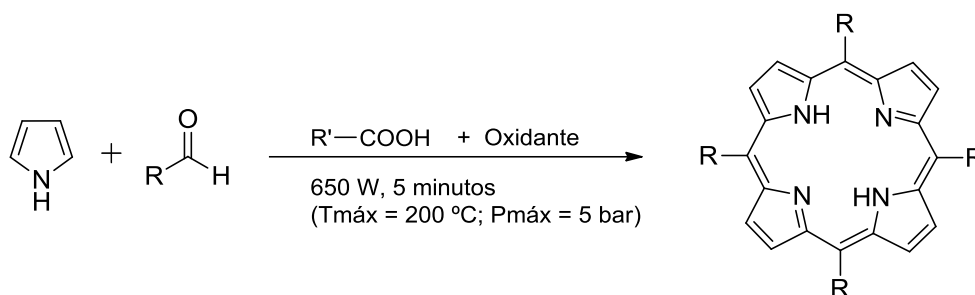
Em 2007, Gonsalves *et al.*,²¹ descreveram a síntese de vários derivados porfirínicos utilizando um microondas doméstico. Para o caso da H₂TPP, alcançaram um rendimento de 20% em apenas 5 minutos de reacção. Posteriormente, a mesma porfirina foi sintetizada no nosso laboratório sob irradiação de microondas, utilizando o modelo Milestone multi-modo, tendo-se obtido um rendimento de 35% em 5 minutos (Esquema 6).²²



Esquema 6

Em 2009, McKay e colaboradores utilizaram o procedimento desenvolvido pelo nosso grupo para preparar derivados porfirínicos com “super-estruturas”.²³

Recentemente, o nosso grupo procedeu à síntese de muitas outras porfirinas *meso*-substituídas, entre as quais a H₂TDCPP e a H₂TPFPP (Esquema 7), seguindo um procedimento idêntico ao usado na síntese da H₂TPP.²⁴ A síntese em microondas, para estas duas porfirinas, não proporcionou melhoria significativa do rendimento comparando com o aquecimento convencional. Contudo, houve uma diminuição do tempo de reacção e, além disso, este método permite sintetizar porfirinas na ausência de nitrobenzeno, que é extremamente tóxico.²⁴



Esquema 7

1.1.4 Aplicações de porfirinas

Para além das inúmeras propriedades biológicas, as porfirinas apresentam também propriedades físico-químicas que permitem a sua aplicação em diversas áreas.²⁵ Estes compostos podem ser encontrados em áreas relacionadas com semicondutores e polímeros condutores,^{26,27} dispositivos ópticos não lineares,²⁸ sensores químicos^{29,30} e sistemas de cristais líquidos coloridos^{31,32} e podem também ser encontrados como agentes fungicidas,³³⁻³⁵ insecticidas^{36,37} e na esterilização de águas.^{38,39}

De todas as áreas onde as porfirinas são aplicadas é de destacar a área da medicina, onde estes compostos são empregados na terapia fotodinâmica (PDT) de tecidos cancerosos.^{40,41} Esta terapia é não só usada no tratamento de diversos tipos de cancro, como no tratamento de artrite, psoríase e da degeneração da mácula da retina.^{42,43} A PDT tem também sido testada na foto-inactivação de vírus, bactérias e fungos.⁴⁴⁻⁴⁵

O grande objectivo da PDT é destruir células indesejáveis, como as células cancerígenas, sem destruir tecidos saudáveis. Esta técnica baseia-se no uso do fotossensibilizador (PS) que é administrado ao doente, normalmente por injeção. O PS irá concentrar-se selectivamente no tecido tumoral e no tecido hiperproliferativo. O PS por si só não tem qualquer efeito tóxico nos tecidos mas, quando é combinado com luz e oxigénio, é activado e as células onde a luz é aplicada são rapidamente destruídas. Se for escolhida a radiação certa, a técnica pode ser bastante selectiva relativamente ao tecido destruído. A maior desvantagem deste método advém da utilização de fotossensibilizadores que também se concentram na pele, pelo que o doente não se poderá expor à luz durante períodos mais ou menos longos.^{40,44}

Além de todas as aplicações já faladas, há também que salientar a utilização e importância das metaloporfirinas em vários processos catalíticos, nomeadamente em processos oxidativos. Em seguida, serão apresentados alguns tópicos sobre processos catalíticos, envolvendo metaloporfirinas, considerados importantes para o desenvolvimento do trabalho realizado ao abrigo desta tese.

1.2 Catálise biomimética oxidativa

A catálise aplicada às reacções de oxidação constitui actualmente um assunto de extrema importância para a síntese orgânica. Grandes esforços têm sido feitos para encontrar um catalisador eficiente para a oxidação selectiva de moléculas orgânicas. A utilização de catalisadores biomiméticos ou bio-inspirados é uma possível solução para este problema.⁴⁷⁻⁴⁹

As oxidações nos sistemas biológicos são catalisadas maioritariamente por metaloenzimas. A principal via de eliminação de fármacos ou de outros xenobióticos é uma biotransformação enzimática que, em muitos casos, se inicia com reacções de oxidação catalisadas pelo citocromo P450.⁵⁰

As metaloporfirinas têm demonstrado ser bons modelos do citocromo P450. A maior parte da investigação usando metaloporfirinas em catálise oxidativa tem sido direccionada para a oxidação de compostos orgânicos com apenas um grupo funcional. No entanto, é importante imitar a oxidação de moléculas mais complexas, com vários grupos funcionais, como é o caso dos fármacos ou de outros xenobióticos.⁵⁰⁻⁶⁰

Nos últimos anos, o nosso grupo desenvolveu uma linha de pesquisa bastante promissora no campo da oxidação biomimética de compostos orgânicos como esteróides, terpenos, hidrocarbonetos aromáticos, alcenos ou alcanos, usando sempre peróxido de hidrogénio e porfirinas de Mn(III) ou de Fe(III) como catalisadores.⁶¹⁻⁶⁹

O uso de modelos químicos biomiméticos na oxidação de fármacos representa uma ferramenta útil na investigação e desenvolvimento de moléculas biologicamente activas, na identificação dos seus grupos funcionais mais sensíveis, na definição de perfis metabólicos *in vivo*, na previsão de metabolitos de oxidação, na produção de metabolitos naturais na ordem das miligramas ou mais, na identificação e isolamento de espécies reactivas intermédias e metabolitos instáveis, na compreensão do mecanismo de acção dos fármacos, ou na detecção de agentes mutagénicos instáveis e na redução do número de experiências com animais.⁵¹

1.2.1. Princípios de Catálise

O fenómeno catalítico tem sido utilizado pelo homem há muitos anos em processos como a produção de vinho, de queijo ou de pão. Humphry Davy em 1816 descobriu que a introdução de platina aquecida numa mistura de ar e gás de carvão levava o metal a adquirir uma cor branca e aplicou essa descoberta à produção da lâmpada de platina, muito usada nas minas. No entanto, só em 1836 Berzelius começou a introduzir o termo catálise para definir esses fenómenos, admitindo que algumas substâncias, em pequena quantidade, tinham uma “força catalítica” que promovia a ocorrência de reacções.⁷⁰

O estudo dos mecanismos catalíticos tornou-se possível quando, em 1920, foi aprovada a cinética de Langmuir – Hinshelwood; desde então e durante algumas décadas, a catálise tornou-se um pouco sinónimo da análise cinética. Mais tarde, com o surgimento da espectroscopia de infravermelho em 1950 e outras técnicas de caracterização, foi possível relacionar as propriedades catalíticas com a composição e estrutura dos materiais. No séc. XX, com o surgimento de novas técnicas computacionais, foi possível compreender melhor o comportamento dos catalisadores.⁷⁰

Actualmente, o processo catalítico é utilizado na maioria das transformações químicas, inclusivé na indústria. Cerca de 85-90% dos produtos das indústrias químicas são sintetizados por processos catalíticos. Os catalisadores são indispensáveis na indústria petrolífera, alimentar e farmacêutica, na prevenção e diminuição da poluição ou na produção de solventes. Nos organismos vivos, ocorrem também várias transformações catalíticas por acção de catalisadores extremamente específicos, as enzimas.⁷⁰

Um catalisador é descrito como uma substância que aumenta a velocidade com que uma reacção atinge o equilíbrio. O catalisador age combinando-se com os reagentes para gerar intermediários que podem assim transformar-se nos respectivos produtos. No final, o catalisador deve ser regenerado, ficando novamente apto para um novo ciclo catalítico. De facto, podemos descrever uma reacção catalítica como um evento cíclico, em que o catalisador participa e que, idealmente, é reconvertido na sua forma original no final do ciclo.⁷⁰

Para melhor compreender como é que um catalisador acelera a reacção podemos olhar para um diagrama de energia potencial, como o apresentado na Figura 10, que compara uma reacção não catalisada com uma reacção catalisada.⁷⁰

No caso da reacção não catalisada, a reacção só procede quando A e B colidem com energia suficiente para ultrapassar a barreira de activação. Os reagentes necessitam de uma quantidade elevada de energia para conseguir chegar ao estado de transição, decaindo depois até ao produto final.⁷⁰

No caso da reacção catalisada, esta é iniciada com a ligação dos reagentes A e B ao catalisador de forma espontânea. A formação deste complexo é exotérmica, diminuindo a energia livre. Posteriormente ocorre a reacção entre A e B, enquanto estão ligados ao catalisador. Este passo é associado a um aumento de energia, contudo significativamente menor, quando comparado com a reacção não catalisada. No final, o produto P separa-se do catalisador num passo que é endotérmico. Desta forma, a presença do catalisador numa reacção diminui a energia de activação (E_a) necessária para a formação dos produtos, aumentando a velocidade da reacção.⁷⁰

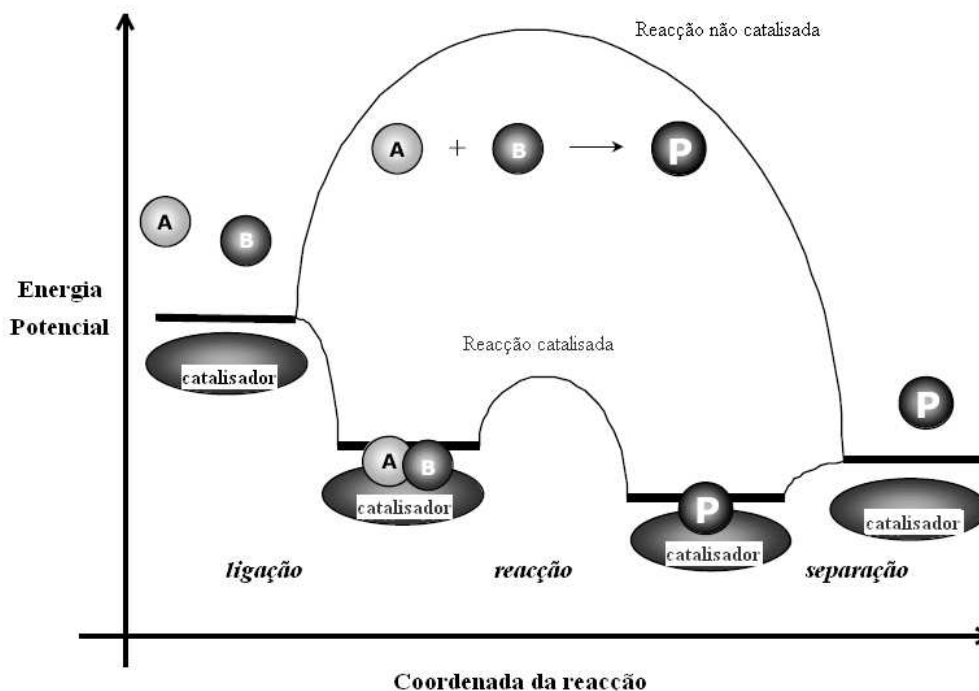


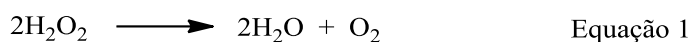
Figura 10: Diagrama de energia de uma reacção catalisada e de uma reacção não catalisada.⁷⁰

1.2.2 Peróxido de hidrogénio como oxidante

O oxidante ideal seria o oxigénio molecular, devido à sua grande abundância no ambiente, baixo custo e também porque é o oxidante mais utilizado nos sistemas biológicos. Contudo, deve ser evitado, dada a perigosidade que envolve o processo de activação.^{71,72}

O peróxido de hidrogénio é também um bom oxidante, apresenta um alto teor de oxigénio activo e, como o oxigénio, é utilizado nos sistemas biológicos. É um reagente de baixo custo, de fácil acessibilidade e origina água como subproduto, sendo desta forma não poluente.^{71,72}

O grande problema da utilização do peróxido de hidrogénio em processos catalíticos é a ocorrência da reacção de dismutação. Para minimizar este problema devem-se encontrar as condições que conduzam à optimização do processo de oxidação, tendo em conta que uma pequena percentagem de peróxido de hidrogénio irá sofrer dismutação em água e oxigénio (Equação 1).^{71,72}



O ozono seria também um oxidante interessante do ponto de vista ambiental, mas tem algumas desvantagens, pois é corrosivo, de armazenamento difícil e é bastante mais dispendioso. O iodosilbenzeno (PhIO) e análogos permitem reacções bastante selectivas catalisadas por metais, mas são igualmente dispendiosos. Outros oxidantes como o ClO^- , HSO_5^- ou IO_4^- originam sais inorgânicos indesejáveis.⁷¹

1.2.3 Eficiência do catalisador

Para um catalisador ser eficiente deve possuir uma elevada actividade, uma boa estabilidade ao longo do tempo e, além disso, deve ser selectivo.^{70,73}

Muitas vezes, a actividade do catalisador é estimada através da conversão de substrato a uma determinada razão substrato/catalisador ao longo do tempo. A conversão é o número de moles de produtos obtidos a dividir pelo número de moles de substrato no

início da reacção e é expressa, normalmente, em percentagem (%). A eficiência do catalisador pode também ser medida pelo número de *turnover* (TON), que é expresso pelo número de moles de produtos obtidos por mole de catalisador ou pela frequência do número de *turnover* (TOF) que é o número de *turnover* por unidade de tempo.^{70,73,74}

A avaliação da estabilidade do catalisador é feita, muitas vezes, por técnicas espectroscópicas.

A selectividade pode ser determinada através do número de moles de um dado produto sobre a quantidade total de produtos. Quando a conversão é de 100%, a selectividade do produto é equivalente ao seu rendimento.^{70,73,74}

Em termos gerais, os catalisadores podem ser heterogéneos, homogéneos e biológicos (enzimas).⁷⁰

Na catálise homogénea, o catalisador e os reagentes encontram-se na mesma fase, que geralmente é a fase líquida. Na indústria, os catalisadores homogéneos são utilizados principalmente na produção de fármacos. Os catalisadores homogéneos são mais selectivos, apresentam elevada actividade e as condições de reacção são normalmente suaves. Contudo, na catálise homogénea a separação do catalisador dos produtos que se formam é um processo extremamente complicado, o catalisador apresenta muitas vezes baixa estabilidade térmica e, geralmente, é difícil recuperá-lo.^{62,70,73}

No caso da catálise heterogénea, o catalisador encontra-se numa fase diferente da dos reagentes, quase sempre é uma fase sólida, e os reagentes encontram-se em fase gasosa ou em solução. Como o catalisador se encontra no estado sólido, normalmente a reacção catalítica ocorre na superfície do catalisador. Os catalisadores heterogéneos são preferidos para aplicações a nível industrial, dada a facilidade de recuperação e estabilidade térmica do catalisador com vista à sua reutilização.⁷⁰

Nas reacções de oxidação o catalisador, para além de ser activo, selectivo e facilmente recuperável, deve ainda ser resistente às condições oxidantes do meio. No caso das reacções em que o oxidante é o peróxido de hidrogénio, o catalisador também não deve favorecer a sua decomposição em água e oxigénio, como já se falou anteriormente.⁷⁴

1.3 O citocromo P450

Como já foi referido, os macrociclos tetrapirrólicos estão envolvidos em processos vitais, constituindo o grupo prostético de uma importante classe de proteínas que são designadas por hemoproteínas. Estas hemoproteínas, apesar de possuírem o mesmo grupo prostético apresentam uma grande variedade de funções biológicas. Estas diferenças nas funções devem-se principalmente à natureza da componente proteica envolvente e ao estado de oxidação do ferro. Quando o ferro se encontra no estado de oxidação +2, o complexo de Fe(II) da protoporfirina IX é denominado por proto-heme ou simplesmente por heme. Se o estado de oxidação do metal for +3, o complexo é designado por hemina.¹

O citocromo P450 é uma hemoproteína que apresenta no seu centro activo um grupo prostético, o complexo de Fe^{III} da protoporfirina IX que, por sua vez, possui um resíduo de cisteína como quinto ligando (Figura 11).^{72, 75}



Figura 11: Representação do centro activo do citocromo P-450.

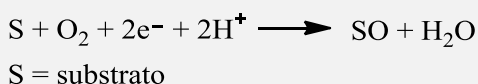
A família dos citocromos P450 está presente na maioria dos organismos vivos. No caso do Homem, os citocromos P450 encontram-se na maior parte dos órgãos, sendo mais abundantes no fígado, nos rins, no intestino e nos pulmões.⁷⁵

O sistema enzimático do citocromo P450 tem sido muito estudado devido à sua participação na biossíntese e degradação de compostos endógenos, como ácidos gordos, esteróides e prostaglandinas, assim como na degradação de compostos exógenos como poluentes e fármacos.⁷⁵

Esta hemoproteína apresenta uma intensa banda de absorção a 450 nm (banda Soret) quando complexada com o monóxido de carbono. Esta banda não é usual nas outras hemoproteínas, uma vez que a maioria apresenta a banda Soret a aproximadamente 420 nm. Para além do citocromo P450, esta banda só foi detectada nas cloroperoxidasas.⁷⁵

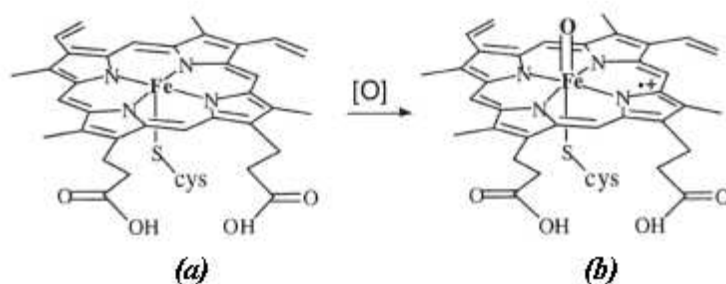
1.3.1 Reacções catalisadas pelo citocromo P450

As primeiras reacções catalisadas pelo citocromo P450 foram descritas por Hayaishi em 1950. Estas reacções são iniciadas com a activação do oxigénio molecular ($^3\text{O}_2$) pelo citocromo P450, seguida da incorporação de um dos átomos de oxigénio no substrato e, simultaneamente, a redução do outro átomo de oxigénio a água (Esquema 8). Os electrões envolvidos neste processo provêm do NADPH e são transferidos deste para o citocromo P450 por acção de uma flavoproteína denominada citocromo P450 reductase.^{52,75}



Esquema 8

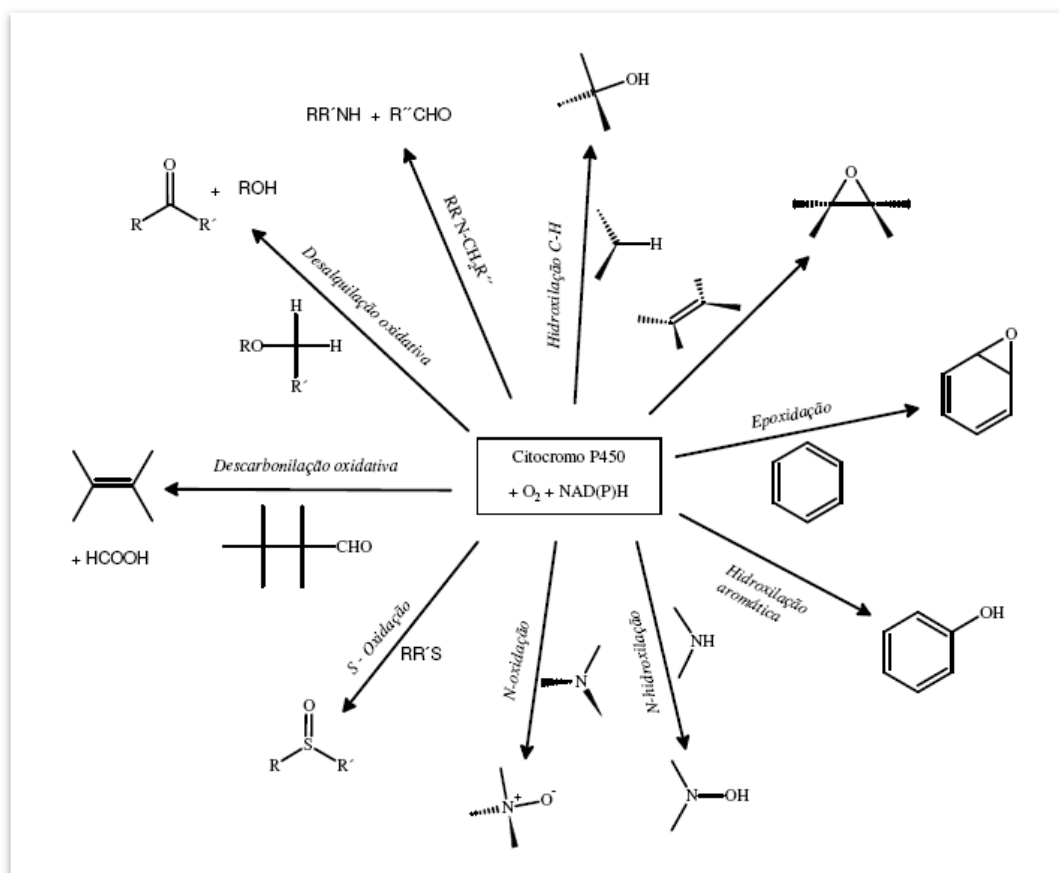
Pensa-se que a activação do oxigénio molecular resulta da oxidação do complexo de ferro(III) da protoporfirina IX (**a**) à espécie reactiva oxo-complexo de ferro(IV)- π -catião-radical (**b**) (Esquema 9). Mais à frente será discutido este processo com maior pormenor.⁷⁵



Esquema 9

O citocromo P450 promove a oxidação eficiente de muitos substratos orgânicos, mesmo os menos reactivos como os alcanos e os aromáticos, muitas vezes até com régio e estereosseletividade.^{50,51,75}

No Esquema 10 apresentam-se várias reacções de oxidação catalisadas pelo citocromo P450.⁷²



Esquema 10

1.3.2 Ciclo catalítico do citocromo P450

Todas as oxidações catalisadas pelo citocromo P450 envolvem um ciclo catalítico comum para a activação do oxigénio (Figura 12).⁵²

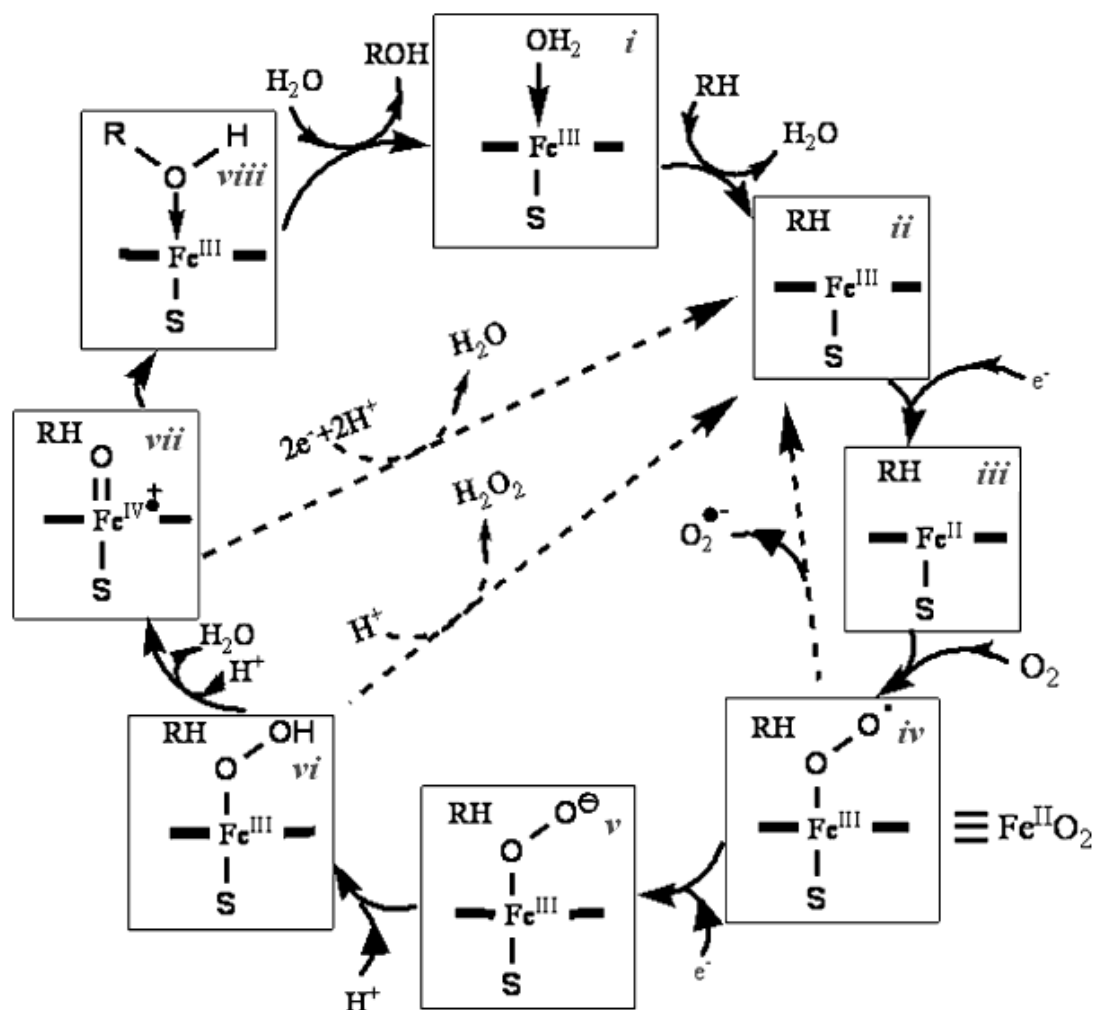


Figura 12: Representação do ciclo catalítico do citocromo P450.⁵²

No início do ciclo catalítico, o citocromo P450 apresenta-se sob a forma de complexo de ferro no estado de oxidação +3 hexacoordenado e possui uma molécula de água como ligando, em posição oposta relativamente ao ligando de cisteína (**i**). A interacção do substrato (RH) com a proteína provoca a saída da molécula de água e gera o complexo de ferro pentacoordenado (**ii**), que é facilmente reduzido por um electrão cedido pelo NADPH originando um complexo ferroso (Fe^{II}) (**iii**). Este complexo de ferro(II)

liga-se facilmente ao oxigénio molecular originando o complexo (**iv**). Para além do oxigénio molecular, este complexo pode também sofrer interacção com outros ligandos como o monóxido de carbono, imidazóis ou fosfinas, que bloqueiam a actividade catalítica e originam a absorção característica a aproximadamente 450 nm. O complexo (**iv**), por seu turno, é novamente um bom aceitador de electrões e é reduzido transformando-se assim no complexo de ferro di-oxo (**v**). O complexo de ferro di-oxo (**v**) é agora uma base de Lewis e pode facilmente sofrer protonação com formação de um hidroperoxo-complexo de ferro(III) (**vi**). Este complexo pode também sofrer uma segunda protonação, com saída de uma molécula de água, dando origem ao oxo-complexo de ferro(IV)- π -catião radical (**vii**). Este catião radical pode também ser considerado como um oxo-complexo de ferro(V). O oxo-complexo (**vii**) pode transferir um átomo de oxigénio para o substrato (**viii**), sendo substituído por uma molécula de água originando a espécie catalítica inicial (**i**).^{50,52,72,75}

Este sistema descrito anteriormente é designado, normalmente, por ciclo longo da actividade catalítica do citocromo P450.⁷⁵ Contudo, o citocromo P450 também pode oxidar os substratos na presença de outros dadores de átomos de oxigénio. Neste caso, ocorre uma passagem directa do complexo pentacoordenado (**ii**) para o oxo-complexo (**vii**). Este ciclo oxidativo, como apresenta um número de etapas significativamente menor, é denominado por ciclo catalítico curto ou também por “ponte de peróxido” (*peroxide shunt*).^{50,52,72,75}

Muitos dos intermediários do ciclo catalítico do citocromo P450 estão já bem caracterizados por variadíssimas técnicas espectroscópicas, no entanto, o ciclo não está ainda totalmente elucidado e existem sérias dúvidas quanto ao processo de transferência do átomo de oxigénio do oxo-complexo (**vii**) para o substrato. Para ajudar a compreender melhor esse processo têm sido desenvolvidos vários modelos sintéticos, nomeadamente com metaloporfirinas.^{52,75}

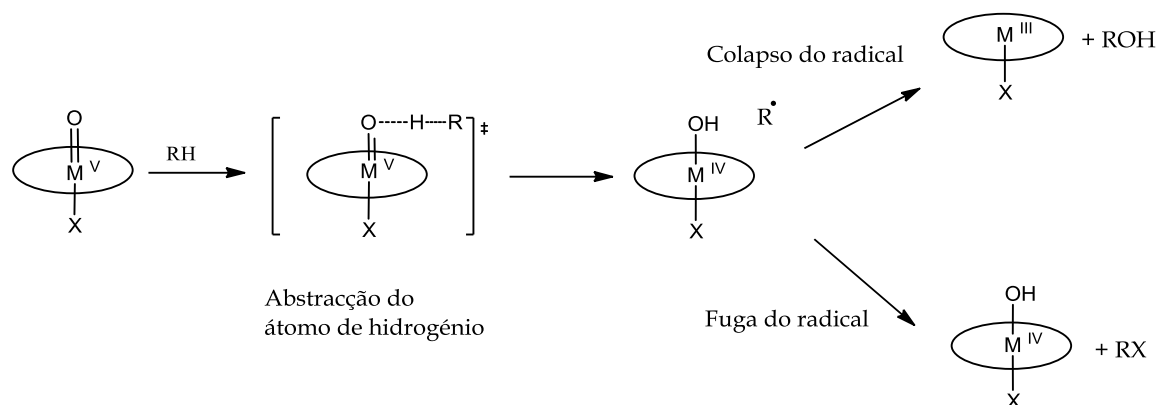
1.4 Metaloporfirinas como modelos biomiméticos do citocromo P450

O desenvolvimento de modelos sintéticos apresenta duas grandes vantagens: em primeiro lugar, permite a sua aquisição em grandes quantidades, ao contrário dos sistemas naturais, uma vez que o isolamento de matrizes biológicas pode ser um processo complicado e moroso; em segundo lugar, como já foi referido, os modelos biomiméticos podem proporcionar novas descobertas relativamente ao trajecto das reacções biológicas e ao estudo dos processos mecanísticos, bem como dos intermediários envolvidos.⁵²

Sabe-se que as metaloporfirinas catalisam um largo espectro de reacções mediadas pelo citocromo P450, incluindo a epoxidação e a hidroxilação alifática e aromática.^{50,51,52,72,75}

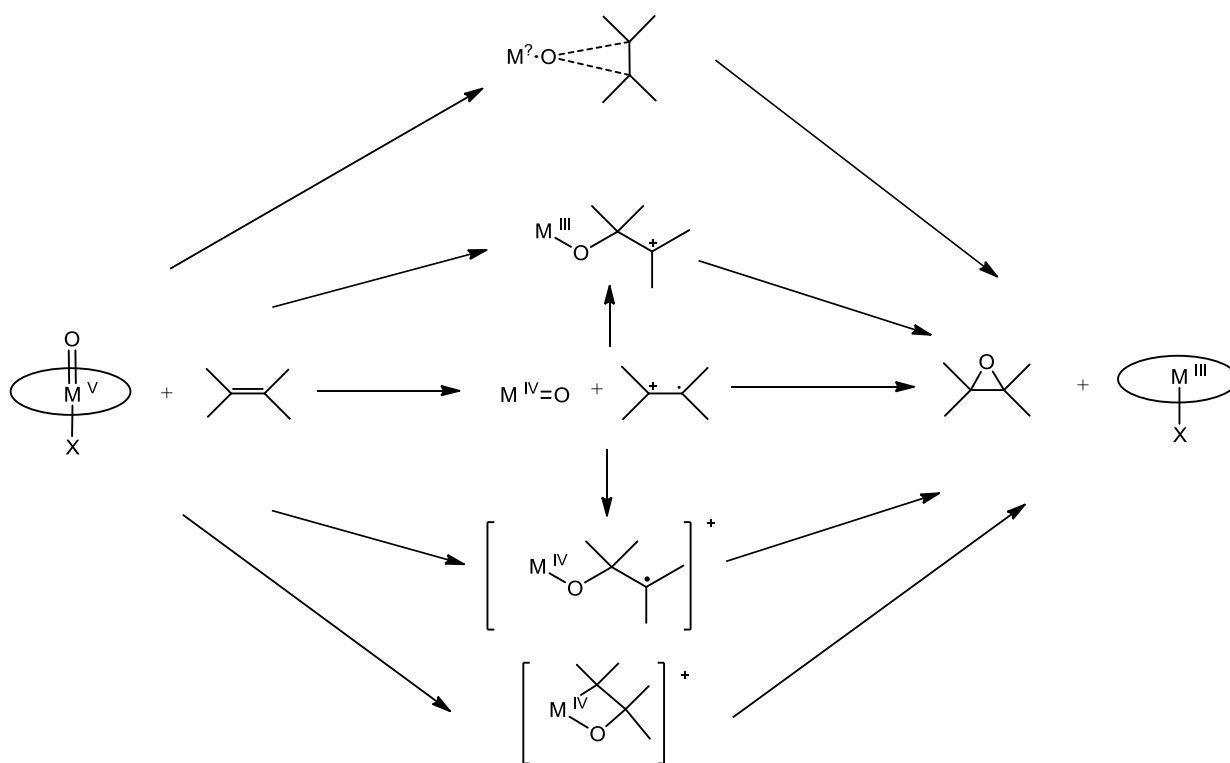
Nos Esquemas 11 e 12 descrevem-se os mecanismos geralmente aceites para a hidroxilação de alcanos e epoxidação de alkenos, respectivamente, baseados principalmente em modelos sintéticos de porfirinas de ferro, manganês e ruténio.⁷²

Groves e colaboradores propuseram que a hidroxilação de alcanos com catalisadores metaloporfirínicos procedia por uma via radicalar, designado muitas vezes por mecanismo *rebound*.⁷² Neste mecanismo (Esquema 11), um átomo de oxigénio é transferido do oxidante para a metaloporfirina formando uma espécie oxo-metaloporfirina. Assume-se que o mecanismo de hidroxilação envolverá a abstracção radicalar de um átomo de hidrogénio do substrato por parte da espécie oxo-metaloporfirina. Seguidamente, o radical formado (R^{\bullet}) rapidamente capta o grupo hidroxilo ao complexo hidroxometaloporfirina. O radical formado pode, por vezes, reagir com outras espécies presentes no meio, caso a reacção com o grupo hidroxilo não seja suficientemente rápida, levando à formação de outros produtos (RX).^{52,72,75}



Esquema 11

No caso do mecanismo de epoxidação de alkenos, porém, subsistem ainda algumas incertezas. Alguns intermediários têm sido propostos para a transferência do átomo de oxigénio da espécie oxo-metaloporfirina para o alceno (Esquema 12). A via mais favorável parece envolver uma adição concertada do átomo de oxigénio por parte da espécie oxo-metaloporfirina à dupla ligação.^{72,75,76}



Esquema 12

Desde os anos 70 até ao princípio dos anos 80, a síntese de metaloporfirinas biomiméticas esteve direccionada para a elaboração de sistemas que modelassem a ligação reversível do oxigénio ao ião Fe^{II} do núcleo central da hemoglobina e da mioglobina. Nos últimos anos os estudos biomiméticos têm sido direccionados mais para o citocromo P450 e as peroxidases.^{51,52,77}

O conhecimento do ciclo curto do citocromo P450 deu um importante impulso ao desenvolvimento de modelos funcionais de monooxigenases. Um dos modelos sintéticos mais estudados é aquele que utiliza metaloporfirinas com uma estrutura baseada na *meso*-tetrafenilporfirina (H_2TPP). Inicialmente foi usado o complexo de ferro(III) da H_2TPP em combinação com o iodosilbenzeno como oxidante. Este sistema foi muito usado na epoxidação de alcenos e hidroxilação de alcanos. Mais tarde demonstrou-se também que os complexos de crómio e de manganésio catalisavam as transferências do átomo de oxigénio do idosilbenzeno para alcenos e alcanos.^{51,52,77}

As metaloporfirinas usadas em catálise oxidativa são divididas normalmente em três gerações de catalisadores. Os catalisadores de primeira geração incluem os complexos metálicos da *meso*-tetrafenilporfirina (H_2TPP) e reproduzem muitas das reacções catalisadas pelo citocromo P450. Contudo, estes catalisadores apresentam alguns inconvenientes pois apresentam baixa estabilidade e há formação de espécies cataliticamente inactivas, o que resulta num decréscimo da sua actividade. No sentido de melhorar a actividade catalítica surgiu a segunda geração de catalisadores. Foram introduzidos grupos volumosos como halogéneos ou grupos alquilo nas posições *orto*, *meso* e *para* dos grupos *meso*-fenilo. Nesta geração de catalisadores encontram-se os complexos de ferro e manganês da 5,10,15,20-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina e da 5,10,15,20-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina. Ao introduzir grupos volumosos aumenta-se também o impedimento estereoquímico em torno do anel porfirínico, o que evita a formação de dímeros inactivos μ -oxo que levam à auto-oxidação do catalisador. No sentido de evitar a destruição do catalisador, foram ainda desenvolvidos catalisadores em que foram substituídos os hidrogénios β -pirrólicos do macrociclo por grupos electronegativos como cloro, bromo, flúor e nitro. Estes novos catalisadores pertencem à terceira geração de catalisadores.^{51,52,77}

No presente trabalho foram utilizados dois catalisadores da 2ª geração, nomeadamente o complexo Mn(TDCPP)Cl **(1)** e o complexo Mn(TPFPP)Cl **(2)** (Figura 13). Estes complexos têm demonstrado ser eficientes catalisadores, tanto em trabalhos do nosso grupo, como em outros trabalhos descritos na literatura.^{51,52,56,59,78}

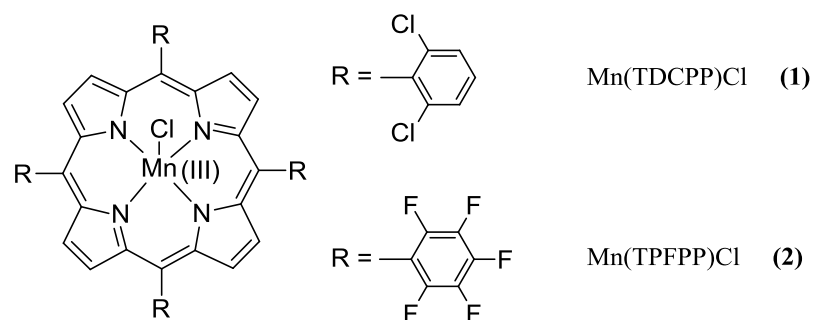


Figura 13: Estruturas dos catalisadores porfirínicos usados nos estudos de oxidação.

Capítulo 2

Síntese dos catalisadores porfirínicos

2 Síntese dos catalisadores porfirínicos

No capítulo 1 foram abordados os métodos de síntese de porfirinas *meso*-substituídas. Neste capítulo serão apresentados os métodos de síntese utilizados na preparação dos catalisadores seleccionados, **(1)** e **(2)**, para os estudos de oxidação catalítica.

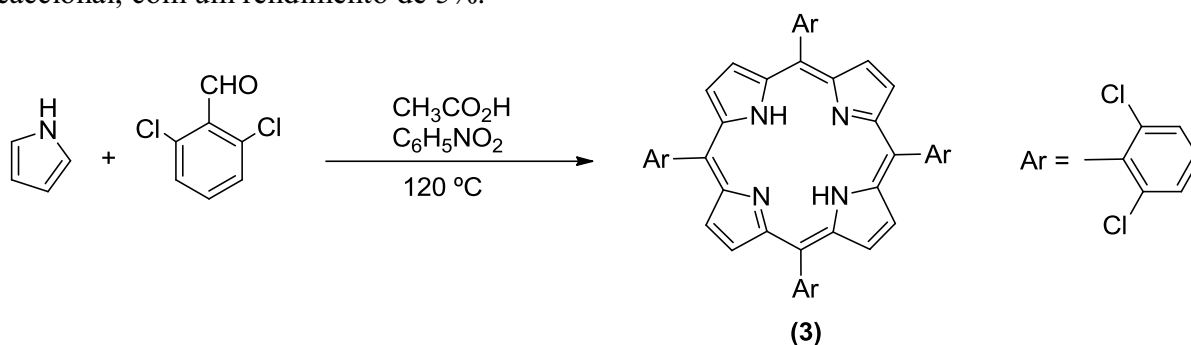
2.1 Síntese dos núcleos livres dos catalisadores

2.1.1 *meso*-Tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (**3**)

A porfirina simétrica **(3)** foi sintetizada de acordo com o método do nitrobenzeno.¹⁵ Esta metodologia envolve a condensação do pirrol com o aldeído, neste caso o 2,6-diclorobenzaldeído, numa mistura de ácido acético e nitrobenzeno a 120 °C (Esquema 13).

A reacção foi acompanhada por TLC e por UV-Vis. Na Figura 14 apresenta-se o espectro de UV-Vis da *meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina **(3)** no final da reacção.

A porfirina **(3)** foi obtida por cristalização em metanol directamente a partir do meio reaccional, com um rendimento de 5%.



Esquema 13

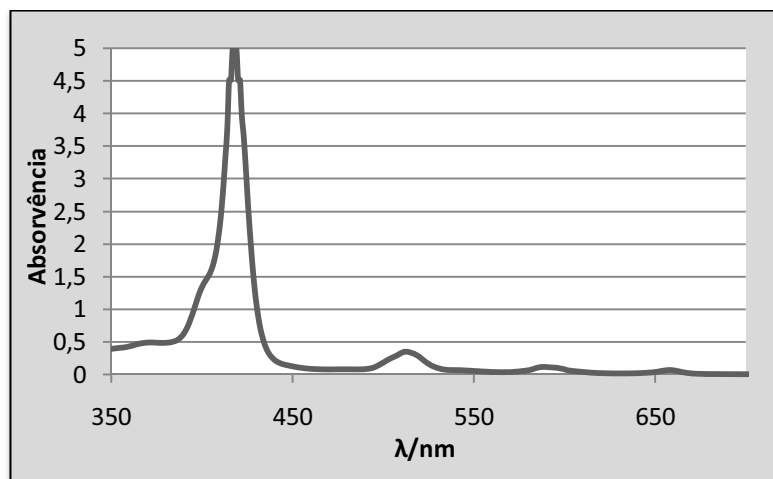


Figura 14: Espectro de UV-Vis da *meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (**3**), no final da reacção.

A estrutura da *meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina foi confirmada por RMN de ^1H . O espectro de RMN de ^1H está representado na Figura 15, sendo possível identificar:

- Um sinal na forma de singuleto com um valor de desvio químico negativo ($\delta -2,54$ ppm), correspondente à ressonância dos prótons NH do interior do anel; estes sofrem uma forte blindagem devido ao campo magnético gerado pela corrente do anel ter sentido oposto ao do campo externo.

- Um sinal na forma de singuleto a $\delta 8,67$ ppm correspondente à ressonância dos oito prótons β -pirrólicos.

- Um sinal na forma de multiplete na zona de prótons aromáticos a $\delta 7,67$ - $7,81$ ppm, correspondente à ressonância dos doze prótons dos anéis aromáticos substituintes das posições *meso*.

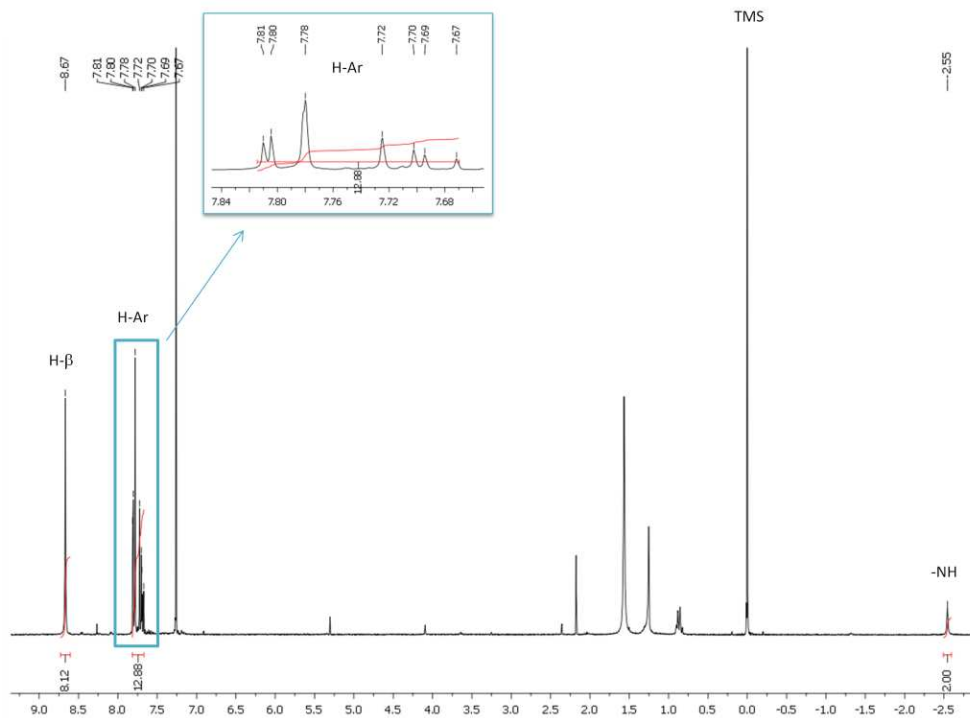
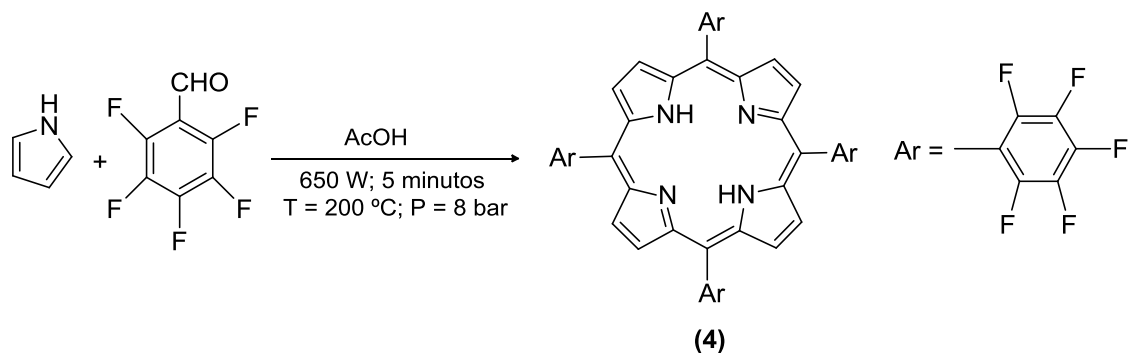


Figura 15: Espectro de RMN de ^1H da *meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (**3**).

2.1.2 *meso*-Tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**4**)

A porfirina simétrica (**4**) foi sintetizada de acordo com uma metodologia desenvolvida no nosso laboratório para a síntese da H_2TPP e que, tendo por base as condições de Adler, faz uso da radiação microondas.^{22,24}

No caso da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**4**), as condições utilizadas foram muito idênticas. A reacção foi realizada a 650 W, à pressão de 8 bar, atingindo a temperatura máxima de 200 °C (Esquema 14).



Esquema 14

A reacção foi acompanhada por TLC e por UV-Vis. No final da reacção realizou-se uma pré-purificação por uma coluna cromatográfica usando como eluente uma mistura de éter de petróleo/diclorometano 2:1.

Por cristalização numa mistura de diclorometano/metanol obteve-se a porfirina **(4)** com um rendimento de 8%, inferior relativamente ao rendimento descrito na literatura para a síntese seguindo o método clássico (11%).^{24,79} Contudo, este método permitiu diminuir o tempo de reacção de 1 hora para 5 minutos e, no caso particular desta porfirina, foi possível a sua síntese sem a necessidade da utilização de nitrobenzeno.

A Figura 16 apresenta o espectro de UV-Vis da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina **(4)** no final da reacção. A estrutura da porfirina foi confirmada por RMN de ¹H e de ¹⁹F.

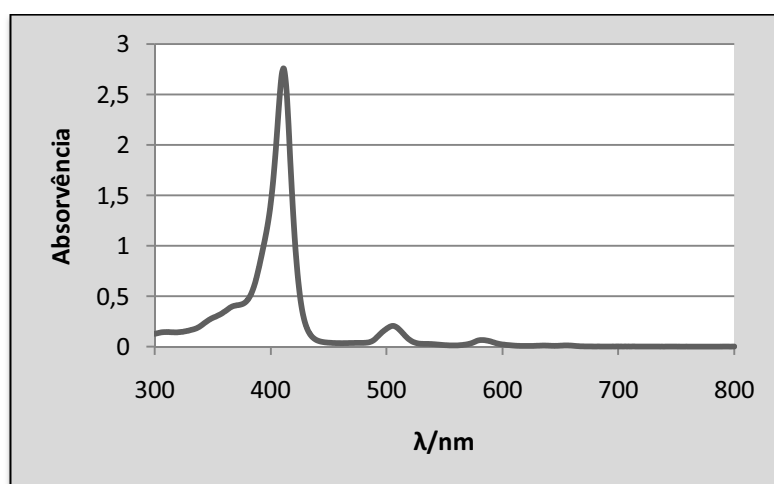


Figura 16: Espectro de UV-Vis da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina **(4)**.

Na Figura 17 encontra-se representado o espectro de RMN ^1H da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**4**), sendo possível identificar a partir do espectro:

- Um sinal na forma de singuleto com um valor negativo de desvio químico a $\delta -2,93$ ppm, correspondente à ressonância dos prótons NH . Estes prótons estão extremamente protegidos devido à aromaticidade do macrociclo fazendo com que os sinais surjam do lado direito do TMS.

- Um sinal na forma de singuleto a $\delta 8,92$ ppm correspondente à ressonância dos oito prótons β -pirrólicos.

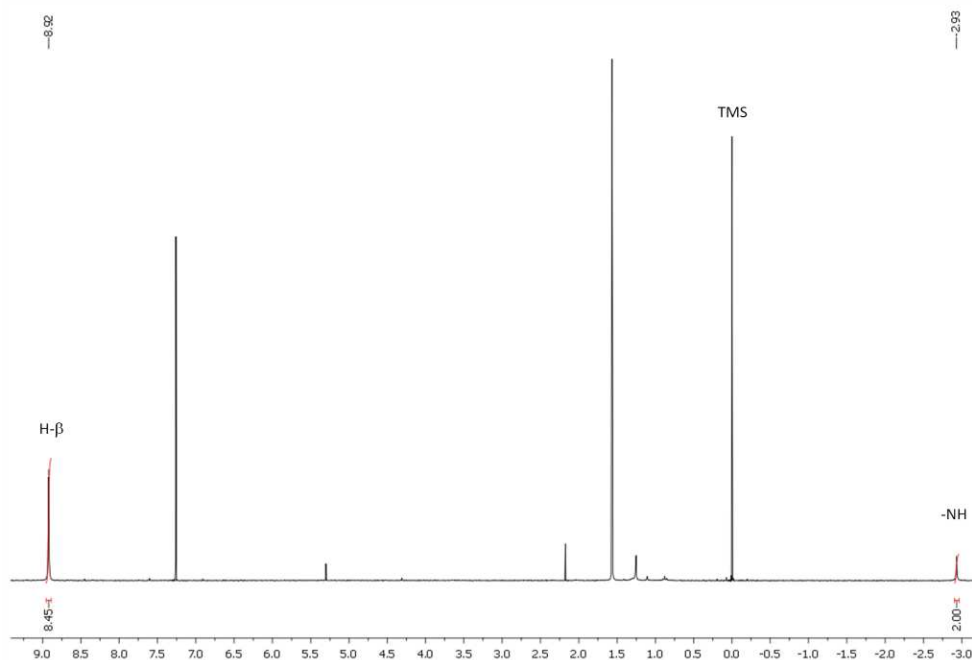


Figura 17: Espectro de RMN de ^1H da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**4**).

Na Figura 18 encontra-se representado o espectro de RMN de ^{19}F da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (**4**), sendo possível identificar:

- Um sinal na forma de duplo duplete a $\delta -160,02$ ppm, que corresponde à ressonância dos átomos de flúor das posições *orto* dos anéis aromáticos substituintes das posições *meso*. Surge na forma de duplo duplete porque estes átomos de flúor estão a acoplar com átomos de flúor das posições *meta* com uma constante de acoplamento

$J = 25,4$ Hz e $J = 8,5$ Hz. Os átomos de flúor das posições *meta*, apesar de quimicamente equivalentes, são magneticamente não equivalentes e, por isso, o sinal surge desdobrado.

- Um sinal na forma de tripleto a δ -174,67 ppm, que corresponde à ressonância dos átomos de flúor das posições *para* dos anéis aromáticos substituintes das posições *meso*. Surge na forma de tripleto porque esses átomos de flúor estão a acoplar com os átomos de flúor das posições *meta* com uma constante de acoplamento $J = 21,2$ Hz.

- Um sinal na forma de multipletto entre δ -184,68 e -184,87 ppm, relativo à ressonância dos átomos de flúor das posições *meta* dos anéis aromáticos substituintes das posições *meso*.

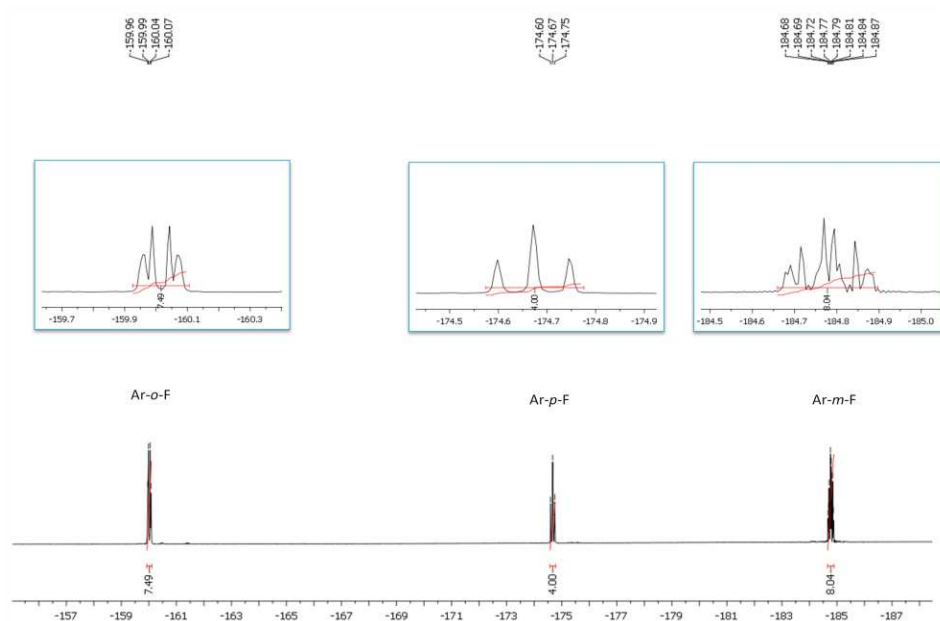
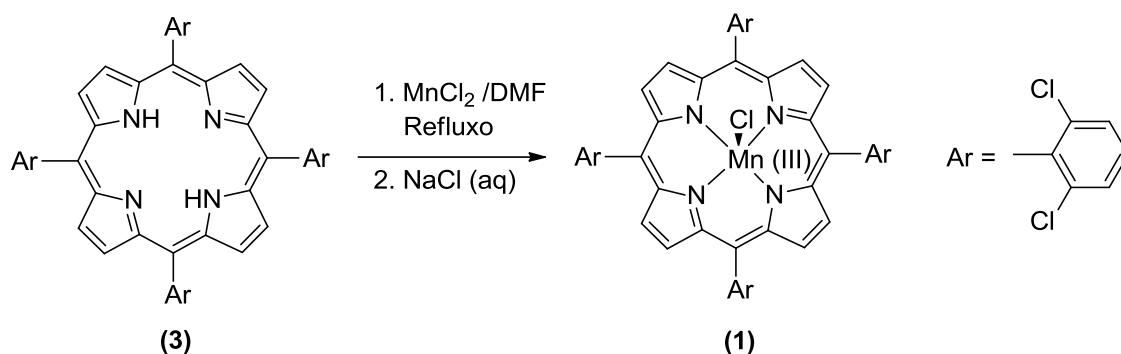


Figura 18: Espectro de RMN de ^{19}F da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (4).

2.2 Síntese dos complexos de manganês

2.2.1 Cloro[*meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III) (1)

A preparação do complexo de manganês da *meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina foi realizada por reacção da forma livre com o sal de manganês, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, em refluxo de DMF, tendo por base o método desenvolvido por Adler (Esquema 15).⁸⁰



Esquema 15

A reacção foi acompanhada por TLC e foi terminada quando o TLC não evidenciava a presença do composto de partida. No final realizou-se um espectro de UV-Vis que permite visualizar um deslocamento da banda Soret (deslocamento batocrómico) para maiores comprimentos de onda ($\lambda_{\text{máx}} = 478 \text{ nm}$) e o desaparecimento de duas das bandas Q do macrociclo livre, o que confirma a presença do complexo (Figura 19). Observa-se ainda a banda de transição do manganês que surge a $\lambda_{\text{máx}} = 371 \text{ nm}$.

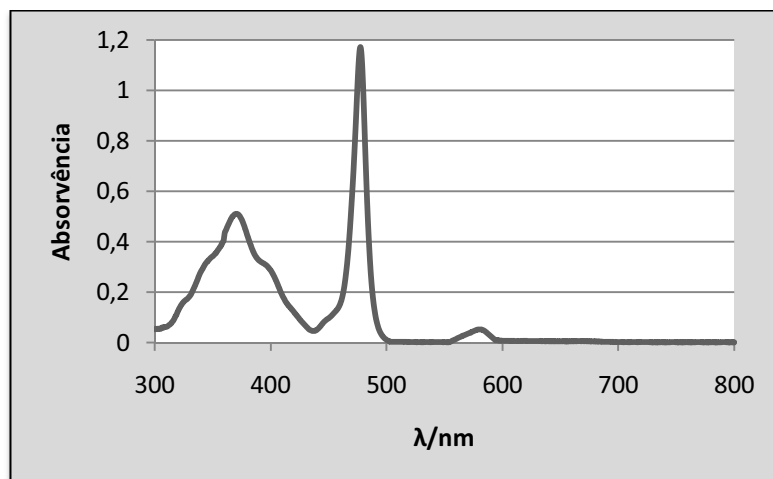
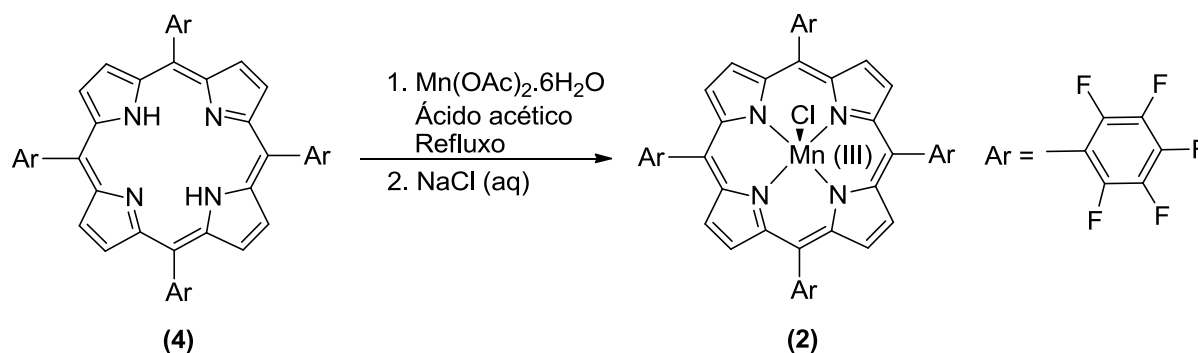


Figura 19: Espectro de UV-Vis da Mn(TDCPP)Cl (**1**).

A mistura reaccional foi deixada sob agitação exposta à atmosfera ambiente durante a noite. A mistura reaccional foi depois lavada com uma solução saturada de NaCl; a fase orgânica foi recolhida e evaporada até à secura. Após cristalização numa mistura de clorofórmio/hexano, foi possível obter a porfirina (**1**) com um rendimento de 90%

2.2.2 Cloro[*meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfinato]manganês(III) (**2**)

A preparação do complexo de manganês da *meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirina foi realizada por reacção da forma livre com o sal de manganês, $\text{Mn}(\text{OAc})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, em refluxo de ácido acético, como se exemplifica no Esquema 16.⁸¹



Esquema 16

Mais uma vez, a reacção foi acompanhada por TLC e foi terminada quando o TLC não evidenciava a presença do composto de partida. No final obteve-se um espectro de UV-Vis que permite visualizar um deslocamento da banda Soret para maiores comprimentos de onda ($\lambda_{\text{máx}} = 474 \text{ nm}$) e o desaparecimento de duas das bandas Q do macrociclo livre, o que confirma a presença do complexo (Figura 20). É possível observar ainda a banda de transição do manganês ($\lambda_{\text{máx}} = 364 \text{ nm}$).

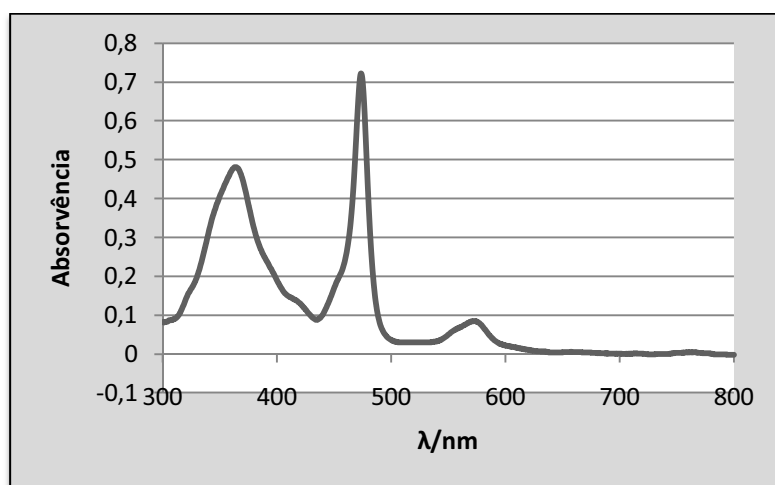


Figura 20: Espectro de UV-Vis da Mn(TPFPP)Cl (**2**).

A mistura reaccional foi deixada sob agitação e exposta à atmosfera ambiente, durante a noite. A mistura reaccional foi lavada com uma solução saturada de NaCl e após extracção da fase orgânica e cristalização em clorofórmio/hexano, obtém-se o complexo pretendido com um rendimento de 80%.

2.3 Parte Experimental

O pirrol, adquirido à Aldrich, foi previamente destilado. Todos os outros reagentes comerciais utilizados não foram sujeitos a qualquer purificação prévia. O 2,6-diclorobenzaldeído e o pentafluorobenzaldeído foram comprados à Fluka, o cloreto de manganês(II) à Merck e o acetato de manganês à Panreac.

Os solventes utilizados para a realização das sínteses, extracções e cristalizações foram considerados puros, tendo sido utilizados sem purificação prévia.

Para o acompanhamento das reacções em TLC foram usadas folhas plásticas revestidas de sílica gel 60, da Merck.

Nas purificações em coluna cromatográfica o material de enchimento foi sílica 60 de 0,063-0,200 mm da Merck.

Os espectros de ultravioleta-visível foram registados num espectrofotómetro Uvikon 922 em células de vidro de 1 cm, usando acetonitrilo como solvente.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{19}F foram adquiridos num aparelho Bruker AMX 300 (a 300,13 MHz e 282,38 MHz, respectivamente). O solvente utilizado foi o CDCl_3 . Nos espectros de ^1H foi usado como padrão interno o TMS ($\delta = 0$ ppm). Nos espectros de ^{19}F foi usado como referência o C_6F_6 considerando o correspondente sinal a -163 ppm, tendo como referência primária o CFCl_3 ($\delta = 0$ ppm). Os desvios químicos (δ) são expressos em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hz.

A síntese realizada em MW foi efectuada num aparelho Ethos SYNTH (Milestone Inc.)

2.3.1 Síntese dos núcleos livres dos catalisadores

2.3.1.1 *meso*-Tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (3)

Num balão de fundo redondo de duas tubuladuras misturaram-se 105 mL de ácido acético glacial e 75 mL de nitrobenzeno. A mistura foi mantida sob agitação e sujeita a aquecimento num banho de óleo à temperatura de 120 °C. Seguidamente adicionou-se o 2,6-diclorobenzaldeído (6,3 g; 28,8 mmol) e, após completa dissolução, adicionou-se o pirrol gota a gota (2,00 mL, 28,8 mmol) e deixou-se refluxar durante 45 minutos.

A cristalização da porfirina foi realizada a partir do meio reaccional, por adição de 200 mL de metanol.

Deixou-se a mistura reaccional em repouso, ao abrigo da luz, durante 4 dias para então se filtrar os cristais num funil de prego sob vácuo, num funil de prego, que foram posteriormente lavados com metanol e dissolvidos em clorofórmio, tendo-se evaporado à secura a solução resultante. Por fim, os cristais foram recristalizados numa mistura de clorofórmio/metanol e filtrados sob vácuo num funil de prego e secos na estufa.

A porfirina pretendida foi obtida com um rendimento de 5%

RMN de ^1H δ (ppm): -2,54 (2H, s-largo, NH); 7,67-7,81 (12H, m, H-Ar); 8,67 (8H, s, H- β).

UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$, nm (%): 417 (100); 512 (7); 588 (2); 658 (1).

2.3.1.2 *meso*-Tetraquis(pentafluorofenil)porfirina (4)

A reacção foi realizada por irradiação com microondas com uma potência de 650 W, aplicando uma pressão máxima de 8 bar. Colocou-se em cada reactor, em sistema fechado, 20 mL de ácido acético glacial, 0,5 mL de pentafluorobenzaldeído (0,004 mol) e 280 μL de pirrol (0,004 mol). No total utilizaram-se 12 vasos reaccionais. A reacção foi terminada ao fim de 5 min. A mistura reaccional foi arrefecida e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O resíduo foi posteriormente sujeito a uma cromatografia em coluna de sílica gel,

usando o eluente éter de petróleo/diclorometano na proporção 2:1. Depois de recolhida a porção de porfirina, evaporou-se o solvente à secura, tendo-se depois procedido a uma cristalização numa mistura de diclorometano/metanol. No final obteve-se a porfirina pretendida com um rendimento de 8%.

RMN de ^1H δ (ppm): -2,93 (2H, s-largo, NH); 8,92 (8H, s, H- β).

RMN de ^{19}F δ (ppm): -160,02 (8F, dd, $J = 25,4$ e $8,5$ Hz, Ar *o*-F); -174,67 (4F, t, $J = 21,2$ Hz, Ar *p*-F); -184,84 a -184,68 (8F, m, Ar *m*-F).

UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$, nm (%): 411 (100); 506 (7); 583 (2); 537 (0,4).

2.3.2 Obtenção dos complexos de manganês

2.3.2.1 Cloro[*meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfinato]manganês(III) (1)

Pesaram-se 50 mg de porfirina para um balão de fundo redondo de 25 mL, com agitador magnético, e dissolveram-se em 5,0 mL de DMF. A solução foi colocada a refluxar no escuro a uma temperatura de 153°C e em atmosfera de azoto. Adicionaram-se 0,5 mL de piridina e 10 eq. de cloreto de manganês(II). A mistura foi deixada a refluxar, controlando-se a evolução da reacção por UV-Vis. Após duas horas a reacção ainda não tinha terminado, tendo-se adicionado por isso mais 10 eq. de cloreto de manganês. Uma hora depois a reacção terminou. Desligou-se o aquecimento e deixou-se a mistura reaccional sob agitação ao ar e protegida da luz durante a noite.

Procedeu-se à evaporação da DMF no evaporador rotativo e o resíduo foi dissolvido em diclorometano e lavado várias vezes com água, tendo sido a última lavagem realizada com uma solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi filtrada por um funil de vidro com sulfato de sódio anidro, tendo-se evaporado o solvente até à secura no evaporador rotativo. O resíduo foi cristalizado numa mistura de clorofórmio/hexano, tendo-se obtido o complexo pretendido com um rendimento de 90%.

UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$, nm (%): 371 (43), 478 (100); 581 (4).

2.3.2.2 Cloro[*meso*-tetraquis(pentafluorofenil)porfirinato]manganês(III) (2)

Pesaram-se, para um balão de fundo redondo de 25 mL, com agitador magnético, 50 mg de porfirina, a que se adicionaram 10 mL de ácido acético. A solução foi colocada a refluxar no escuro e em atmosfera de azoto. Adicionaram-se 10 equivalentes de acetato de manganês ($\text{Mn}(\text{OAc})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). A mistura foi deixada a refluxar, controlando-se a evolução da reacção por UV-Vis. Após quatro horas a reacção tinha terminado. Desligou-se o aquecimento e deixou-se a mistura reaccional sob agitação ao ar e protegida da luz durante a noite.

Procedeu-se à evaporação do ácido acético no evaporador rotativo e o resíduo foi dissolvido em diclorometano e lavado várias vezes com água, tendo sido a última lavagem realizada com uma solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi filtrada por um funil de vidro com sulfato de sódio anidro, tendo-se evaporado o solvente até à secura no evaporador rotativo. O resíduo foi cristalizado numa mistura de clorofórmio/hexano, tendo-se obtido o complexo desejado com um rendimento de 80%.

UV-vis (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$, nm (%): 364 (66) ; 474 (100); 573 (12).

Capítulo 3

Estudos de oxidação catalisada por metaloporfirinas

3 Estudos de oxidação catalisada por metaloporfirinas

Neste trabalho, os estudos de processos oxidativos foram efectuados em fase homogénea e foi determinada a percentagem de conversão dos substratos nas espécies oxidadas, tanto por GC como por HPLC ou por RMN de ^1H .

Foi realizada a oxidação do *cis*-cicloocteno (**5**), da carbamazepina (**6**) e da cafeína (**7**), em presença de peróxido de hidrogénio aquoso (Figura 21).

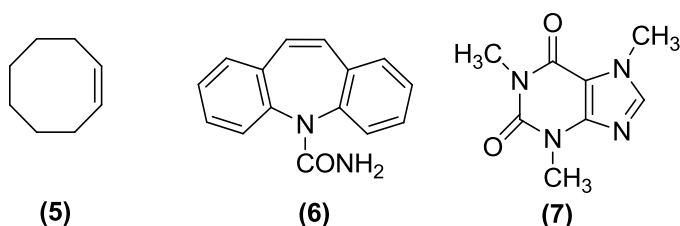


Figura 21: Estruturas dos substratos usados nos estudos de oxidação.

O sistema (Mn-porfirina/ H_2O_2 /acetato de amónio) já foi estudado e otimizado em trabalhos anteriores pelo nosso grupo.^{62,74} As condições reaccionais inicialmente estabelecidas para a realização dos estudos de oxidação de compostos orgânicos encontram-se descritas na Tabela 1. Todas as reacções foram efectuadas na ausência de luz, de modo a evitar a eventual influência da luz na actividade e/ou estabilidade dos catalisadores.

Tabela 1: Condições reaccionais inicialmente usadas nos estudos de oxidação.

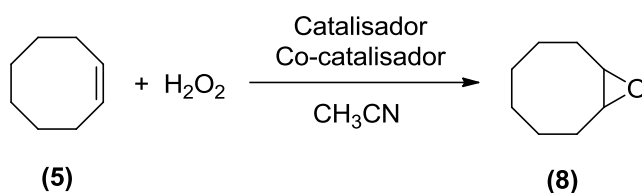
Parâmetro	Condições
Solvente	CH_3CN
Volume Total	2 mL
Co-catalisador	Acetato de amónio, ≈ 15 mg
Temperatura	≈ 30 °C
Oxidante	H_2O_2 a 30% diluído 1:10 em CH_3CN ; adição progressiva em intervalos de 15 min, 0,5 eq. ^(a)

^(a) Equivalentes molares relativamente ao substrato.

3.1 Oxidação do *cis*-cicloocteno (5)

O catalisador Mn(TDCPP)Cl foi testado na oxidação do *cis*-cicloocteno (5), um substrato bem estudado e que conduz a uma epoxidação rápida e com óptima selectividade para o epóxido (Esquema 17). As reacções foram realizadas de acordo com a Tabela 1, usando 0,3 mmol de substrato e com a razão molar sustrato/catalisador 600.

Os processos de oxidação foram devidamente acompanhados por cromatografia gasosa (GC) em intervalos regulares de 15 minutos, usando *n*-octano como padrão interno, tendo-se parado a adição de H₂O₂ quando a conversão do substrato não evidenciou alteração em duas análises sucessivas, ou quando o UV-Vis mostrava uma destruição total do catalisador.



Esquema 17

Como é possível constatar na Figura 22, onde se exemplifica o acompanhamento por GC da epoxidação do *cis*-cicloocteno catalisada pela Mn(TDCPP)Cl, confirma-se a formação de apenas um produto, o epóxido (8).

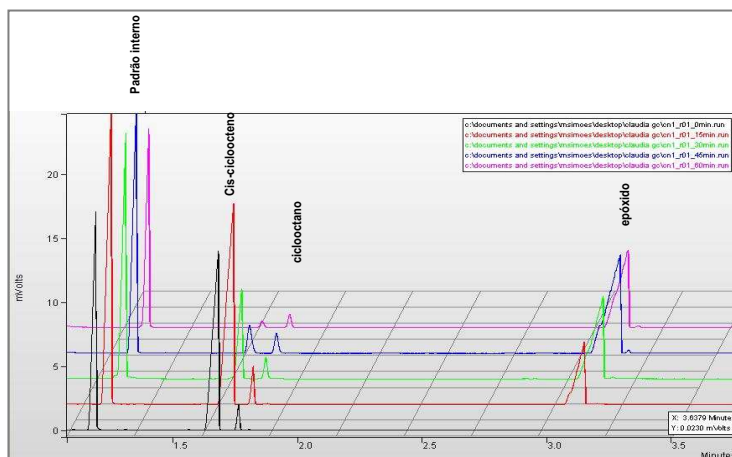


Figura 22: Evolução da oxidação do *cis*-cicloocteno acompanhada por GC, catalisada por Mn(TDCPP)Cl.

Na Figura 23 está representado o gráfico da percentagem de conversão do *cis*-cicloocteno no respectivo epóxido, em função do tempo de reacção. Como se pode verificar, com o catalisador Mn(TDCPP)Cl, a taxa de conversão é muito boa e, após 60 minutos, verifica-se uma conversão superior a 95%.

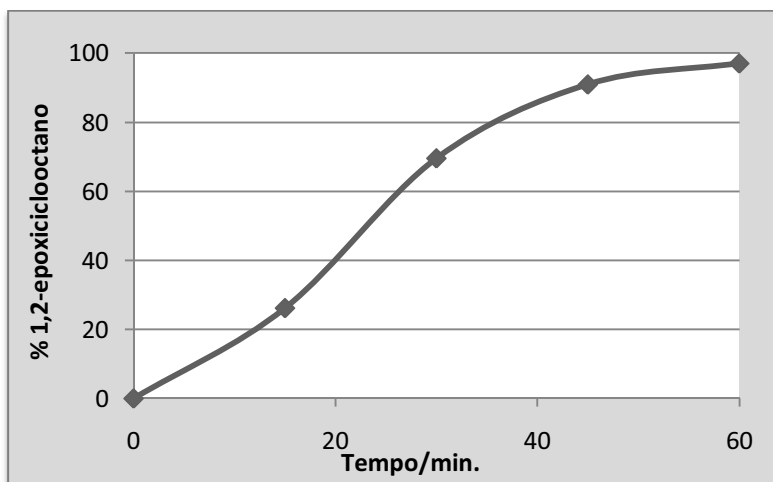


Figura 23: Representação da conversão do *cis*-cicloocteno no 1,2-epoxiciclooctano ao longo do tempo.

3.2 Oxidação da carbamazepina (6)

A carbamazepina (**6**) é um dos medicamentos mais prescritos no tratamento da epilepsia.⁸²⁻⁸⁴ Este medicamento está porém associado a uma variedade de problemas da pele, dos rins, do fígado e de imunidade. Acredita-se que este tipo de problemas possa resultar da reacção de metabolitos que ainda não foram identificados.⁸⁴

A carbamazepina é metabolizada ao epóxido (**9**) e a outros metabolitos no fígado pelas enzimas CYP 3A4 e CYP 2C8 do sistema enzimático do citocromo P450.⁸²⁻⁸⁴ Sob o ponto de vista clínico, o epóxido (**9**) é o mais importante dos 33 metabolitos da carbamazepina já identificados, porque este apresenta actividade farmacológica.⁸²⁻⁸⁴ A enzima CYP 3A4 é uma das mais importantes no metabolismo de fármacos e é também responsável pelo metabolismo da carbamazepina no composto (**9**).⁸²⁻⁸⁴



Meunier e colaboradores realizaram a oxidação da carbamazepina com duas metaloporfirinas solúveis em água: uma catiónica, o complexo de manganês(III) da *meso*-tetraquis(*N*-metilpiridínio-4-il)porfirina (MnTMPyP); a outra aniónica, o complexo de ferro(III) da *meso*-tetraquis(2,6-dicloro-3-sulfonatofenil)porfirina (FeTDCPPS).⁸⁵ Nessas reacções os autores utilizaram 500 µM de carbamazepina, 5 mM de KHSO₅ (monopersulfato de potássio) como oxidante e 10 µM de catalisador com adições de 2 µM a cada 15 minutos, perfazendo um volume final de 500 µL. As reacções foram realizadas à temperatura de 20 °C, tendo alcançado conversões na ordem dos 99%, com rendimentos para o respectivo epóxido na ordem dos 80%.⁸⁵

Estudos de catálise oxidativa da carbamazepina desenvolvidos por Faria e colaboradores, evidenciaram que metaloporfirinas de ferro(III) e manganês(III) em fase homogénea e ligadas covalentemente a suportes sólidos (por exemplo, *montmorillonite* K-10 e sílica), são catalisadores eficientes e selectivos na formação do epóxido já referido.⁸⁴ Tais estudos recorreram a diferentes tipos de catalisadores e dois oxidantes, o iodosilbenzeno (PhIO) e o peróxido de hidrogénio (H₂O₂), tendo-se obtido os resultados apresentados na Tabela 2.⁸⁴

Tabela 2: Resultados dos estudos com diferentes catalisadores e dois tipos de oxidantes, PhIO e H₂O₂.⁸⁴

Catalisador	Rendimento em epóxido (%)	
	PhIO	H ₂ O ₂
Fe(TPFPP)Cl	100	Nd
Mn(TPFPP)Cl	86	13
FeSil1	Nd	Nd
MnSil1	41	6
FeMont1	Nd	3
MnMont1	93	9
FeSil2	2	Nd
MnSil2	36	7
FeMont2	Nd	3
MnMont2	20	3

Nd = Não detectado

As reacções ocorreram à temperatura ambiente, usando a razão molar 1:40:35 de catalisador:oxidante:fármaco.⁸⁴

A sílica (Sil) e a *montmorillonite* K-10 (Mont) usadas como suportes sólidos nesse trabalho foram modificadas por reacção com 3-aminopropiletoxissilano (X = 1) e *N*-(6-amino-hexil)-3-aminopropiltrietoxissilano (X = 2).⁸⁴

No nosso trabalho, os processos de oxidação da carbamazepina (**6**) foram realizados de acordo com a Tabela 1, usando 0,1 mmol de substrato e razões molares substrato/catalisador 150, 300 e 600. O oxidante usado foi o H₂O₂ a 30% com uma diluição 1:5 em CH₃CN com adições progressivas de 15 em 15 minutos.

As reacções foram inicialmente acompanhados por TLC em intervalos regulares, tendo-se parado a adição de H₂O₂ quando a conversão do substrato não evidenciou alteração em duas análises sucessivas, ou quando o UV-Vis mostrava uma destruição total do catalisador.

No final das reacções verificou-se sempre o estado do catalisador por UV-Vis (Figuras 24 e 25).

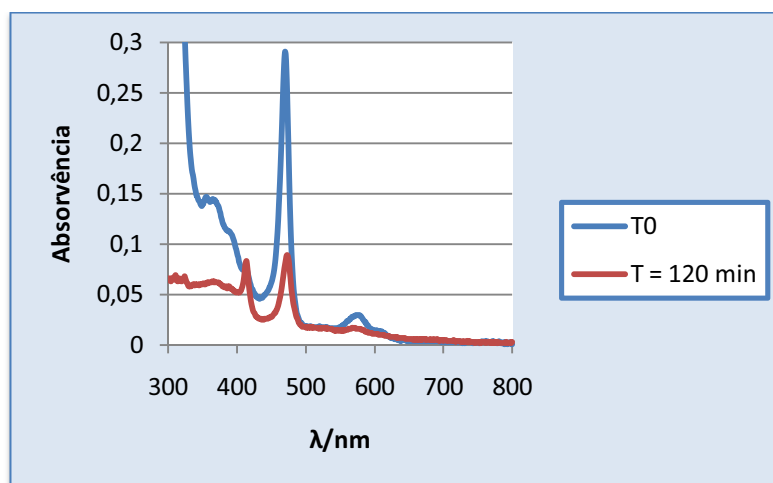


Figura 24: Espectro de UV-Vis do catalisador Mn(TDCPP)Cl antes e depois da reacção de oxidação para a razão molar sustrato/catalisador 150.

Como se pode verificar pela Figura 24, no caso da Mn(TDCPP)Cl ainda está presente no espectro a banda Soret da espécie cataliticamente activa, apesar de já se poder visualizar a banda da espécie cataliticamente inactiva.

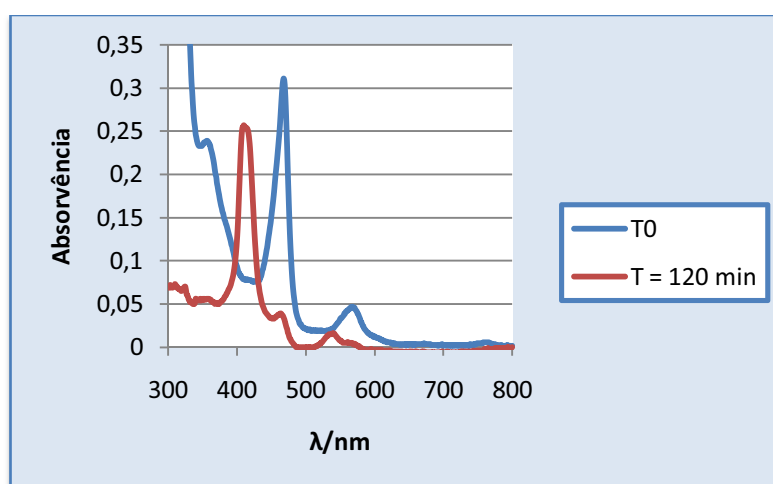
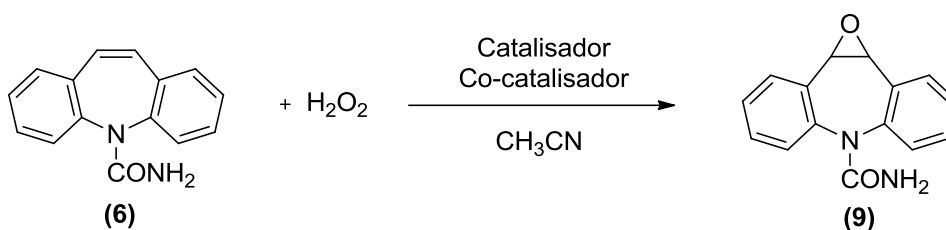


Figura 25: Espectro de UV-Vis do catalisador Mn(TPFPP)Cl antes e depois do fim da reacção de oxidação para a razão molar sustrato/catalisador 150.

No caso da $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$, após 120 minutos de reacção para a razão molar/substrato catalisador 150, quase já não se observa a banda Soret original, podendo-se afirmar que a $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$ nestas condições converteu-se praticamente toda na espécie cataliticamente inactiva (Figura 25).

Destas análises pode-se concluir que o complexo $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$ é relativamente mais estável que o complexo $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$.

Por TLC observou-se apenas um produto que, no final da reacção, foi extraído com diclorometano e caracterizado por RMN de ^1H , tendo-se concluído que o produto da oxidação é o epóxido **(9)** (Esquema 18).



Esquema 18

A partir do espectro de RMN de ^1H da carbamazepina (**6**) (Figura 26) é possível identificar:

- Um sinal na forma de singuleto largo a δ 4,48 ppm característico de prótons lábeis e que corresponde à ressonância dos dois prótons 5-NCO-NH_2 ;
- Um sinal na forma de singuleto relativo à ressonância dos prótons H-10 e H-11, que surge bastante desprotegido a δ 6,95 ppm.
- Um sinal na forma de multipeto na zona dos prótons aromáticos a δ 7,31 - 7,50 ppm relativo à ressonância dos oito prótons dos anéis benzênicos.

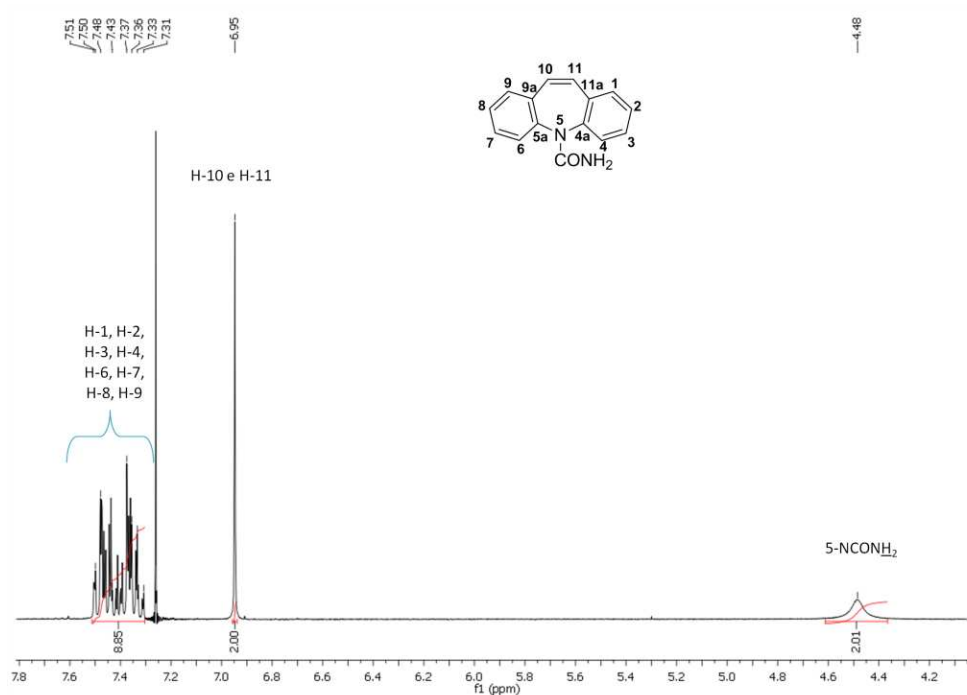


Figura 26: Espectro de RMN de ^1H da carbamazepina (**6**).

A partir do espectro de RMN de ^1H do epóxido (**9**) (Figura 27) é possível identificar:

- Um sinal em forma de singuleto largo a δ 4,60 ppm característico de prótons lábeis que corresponde à ressonância dos prótons 5-NCONH_2 .
- Um sinal em forma de duplete na zona dos prótons aromáticos a δ 7,50 ppm que deverá corresponder à ressonância dos H-6 e H-4. São os que surgem mais desprotegidos devido à sua aproximação ao grupo carbonilo.

- Um sinal em forma de multipeto a δ 7,31 – 7,42 ppm correspondente à ressonância dos restantes protões aromáticos (H-1, H-2, H-3, H-7, H-8 e H-9).

Importa destacar o deslocamento do sinal em forma de singuleto correspondente à ressonância dos protões H-10 e H-11 que, na carbamazepina, surge a δ 6,95 ppm e no caso do epóxido surge para campos mais altos, a δ 4,28 ppm.

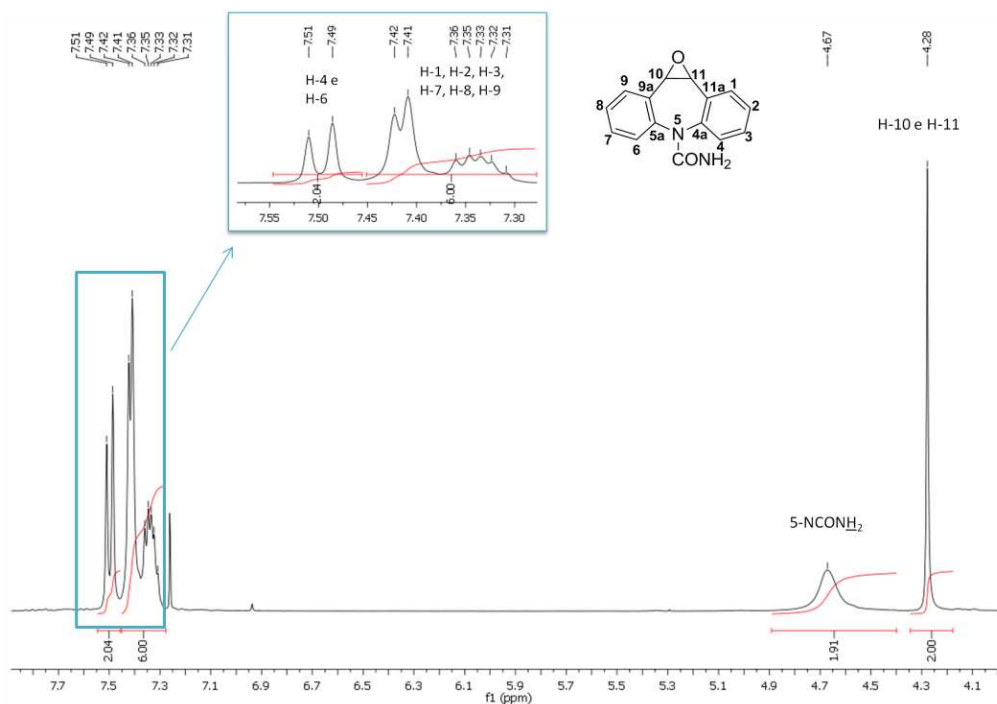


Figura 27: Espectro de RMN de ^1H do epóxido (9).

As reacções de oxidação da carbamazepina foram posteriormente monitorizadas por HPLC, tendo sido efectuadas análises regulares de 15 em 15 minutos.

Nas Figuras 28-30 encontram-se os cromatogramas de HPLC para o acompanhamento da reacção, onde se observa a conversão da carbamazepina no respectivo epóxido.

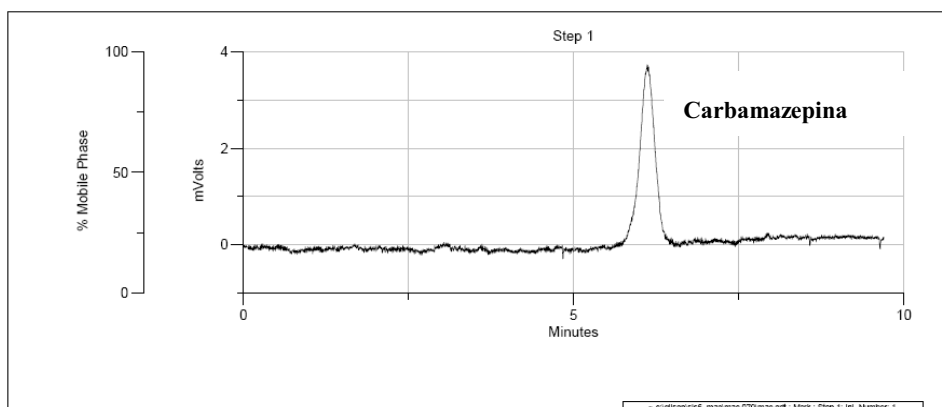


Figura 28: Cromatograma da mistura reaccional antes de iniciada a reacção, por adição de H_2O_2 .

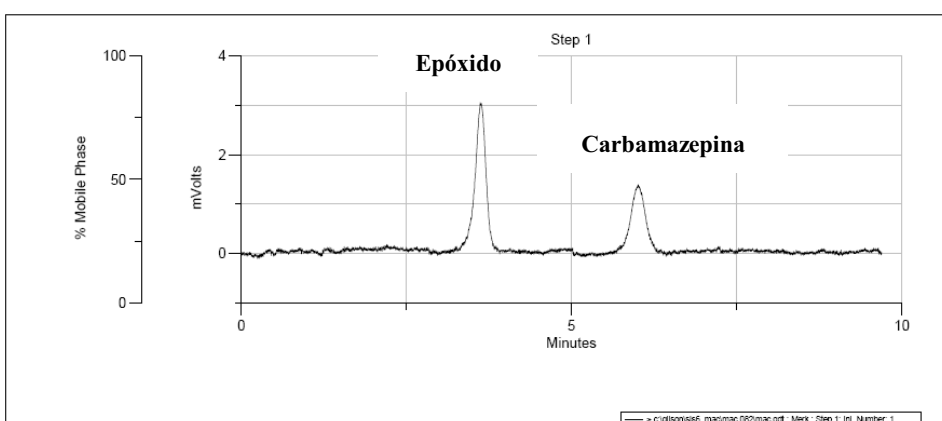


Figura 29: Cromatograma da mistura reaccional após 45 minutos de reacção de oxidação catalisada pelo complexo $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$.

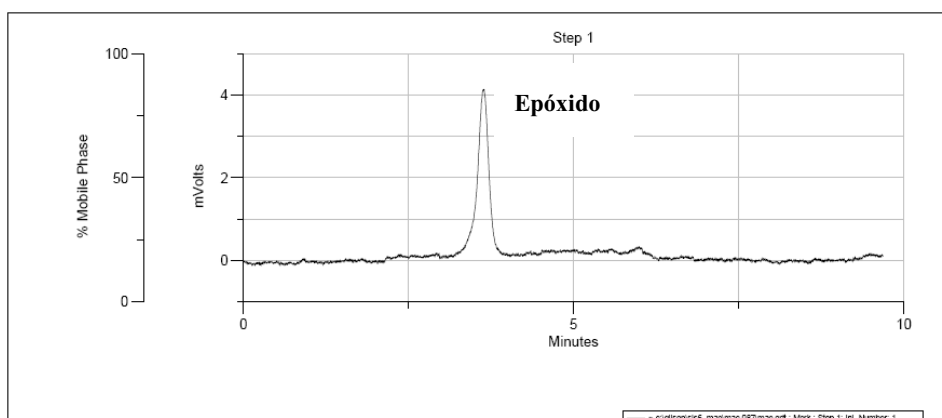


Figura 30: Cromatograma da mistura reaccional no final da reacção de oxidação catalisada pelo complexo $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$.

Na Tabela 3 encontram-se os resultados obtidos com os dois sistemas catalíticos testados na oxidação da carbamazepina (**6**).

Tabela 3: Resultados obtidos na oxidação da carbamazepina (**6**) com H₂O₂ catalisada pelos complexos Mn(TDCPP)Cl e Mn(TPFPP)Cl.

Catalisador	Razão molar Sub/Cat	Tempo (min)	H ₂ O ₂ (eq.)	Conv. (%)	Selectividade (epóxido %)	TON	TOF ^(a) (s ⁻¹)
Mn(TDCPP)Cl	600	240	8	97	>99	582	$3,8 \times 10^{-2}$
	300	180	6	99	>99	297	$5,7 \times 10^{-2}$
	150	120	4	99	>99	148	$9,3 \times 10^{-2}$
Mn(TPFPP)Cl	600	180	6	66	>99	396	$5,3 \times 10^{-2}$
	300	180	6	98	>99	294	$8,3 \times 10^{-2}$
	150	120	4	99	>99	148	$1,3 \times 10^{-1}$

^(a) Os TOF (s⁻¹) foram calculados ao fim de 30 min. de reacção.

Pode-se observar na Tabela 3 que a selectividade para o epóxido é, para todas as razões molares e para ambos os catalisadores, superior a 99%. Verificou-se que, quando se usa o catalisador Mn(TDCPP)Cl, se obtêm conversões superiores a 97% para todas as razões molares substrato/catalisador estudadas.

Na Figura 31 está ilustrado o gráfico que representa a percentagem de conversão da carbamazepina no respectivo epóxido quando é usado o catalisador Mn(TDCPP)Cl. Como se pode verificar, a percentagem de conversão, aos 105 minutos, é já superior a 99%.

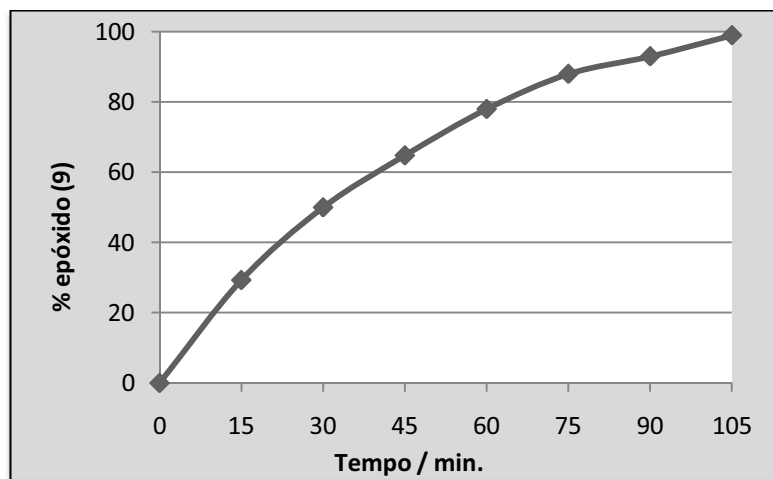


Figura 31: Representação da conversão da carbamazepina no respectivo epóxido ao longo do tempo para a razão molar substrato/catalisador 150, quando é usado o catalisador Mn(TDCPP)Cl.

O parâmetro que sofre maior influência da quantidade de catalisador usado é o tempo de reacção. Na Figura 32 podemos observar a influência da quantidade usada de catalisador, para o caso da Mn(TDCPP)Cl, no tempo de reacção. O gráfico mostra que, quanto menor for a quantidade de catalisador usada, mais tempo é necessário para que a conversão da carbamazepina seja superior a 97%.

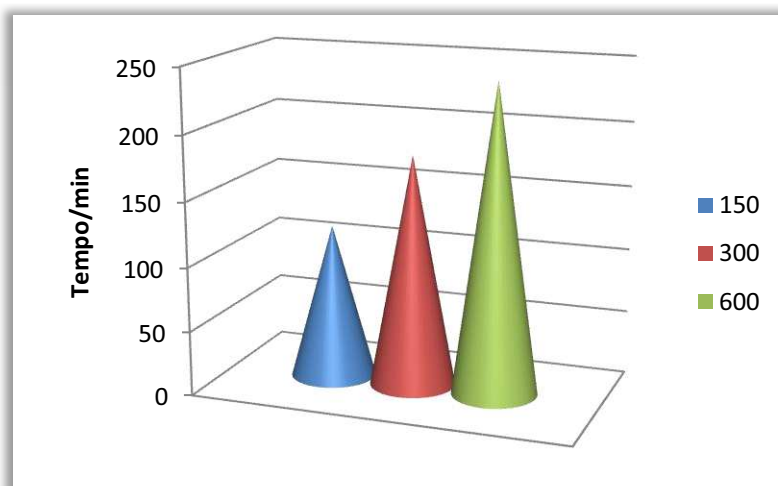


Figura 32: Influência da quantidade do catalisador Mn(TDCPP)Cl no tempo de reacção na oxidação da carbamazepina (6).

Quando se usa o catalisador Mn(TPFPP)Cl, a percentagem de conversão da carbamazepina no epóxido diminui quando se diminui a quantidade de catalisador usado (Figura 33). Verifica-se também que, quando se usa a razão molar substrato/catalisador 600, a conversão da carbamazepina não vai além dos 66% (Tabela 3). A reacção para esta razão molar foi terminada aos 180 minutos porque se observou, por espectrofotometria de UV-Vis, que todo o catalisador tinha sido convertido na sua espécie cataliticamente inactiva.

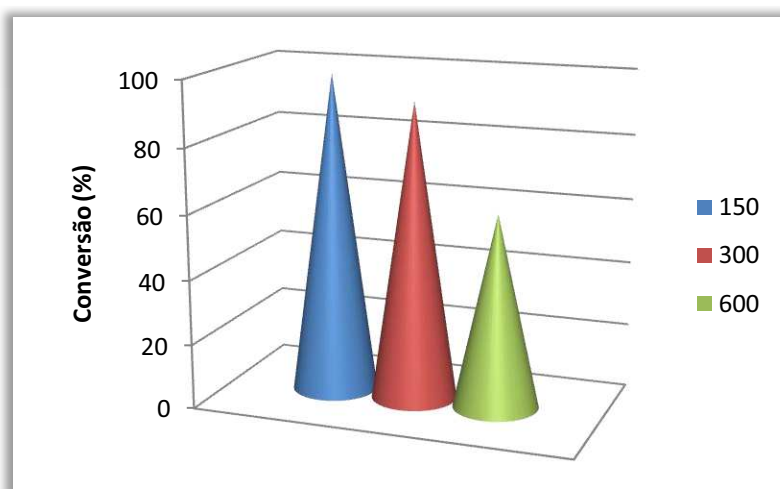
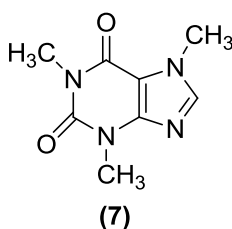


Figura 33: Influência da quantidade do catalisador Mn(TPFPP)Cl na conversão da carbamazepina (6).

3.3 Oxidação da cafeína (7)

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) (7) é a substância psico-activa – estimula acções do sistema nervoso central – mais usada no mundo. Esta apresenta uma ampla ocorrência na alimentação humana, como constituinte de vários alimentos – pode ser encontrada no café, no chá, no chocolate e em muitas bebidas energéticas.⁸⁶⁻⁸⁹ No campo farmacológico, a cafeína é, muitas vezes, combinada com analgésicos tendo como objectivo o incremento do seu efeito, sendo também utilizada como estimulante respiratório e cardíaco, assim como agente diurético.⁸⁸



A cafeína é metabolizada principalmente via citocromo P450, xantina oxidase ou *N*-acetiltransferase.^{87,89,90} As principais vias metabólicas encontram-se ilustradas na Figura 34.⁸⁷ As reacções de *N*-desmetilação são catalisadas especificamente pela sub-família CYP1A2.^{87,89,90} Estudos têm demonstrado que a actividade da enzima CYP1A2 apresenta variabilidade inter-individual na população. Parâmetros comportamentais como o consumo de álcool, tabaco ou exercício físico podem alterar a actividade das enzimas responsáveis pelo metabolismo de fármacos.⁹⁰ A 3-*N*-desmetilação origina a paraxantina, produto principal do metabolismo da cafeína no Homem. Já a reacção de oxidação na posição 8 é catalisada principalmente pela sub-família CYP3A.^{87,89,90}

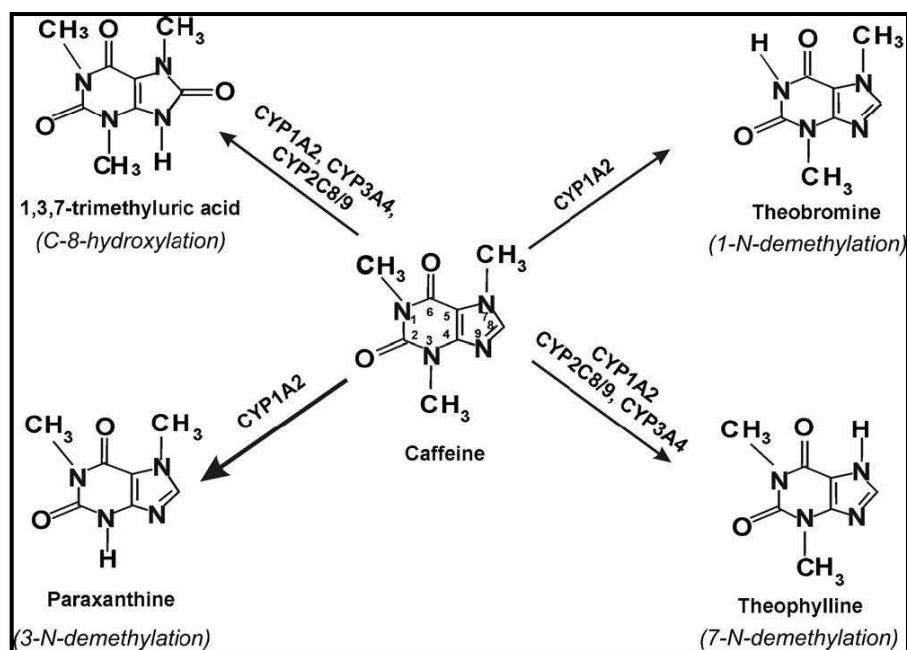
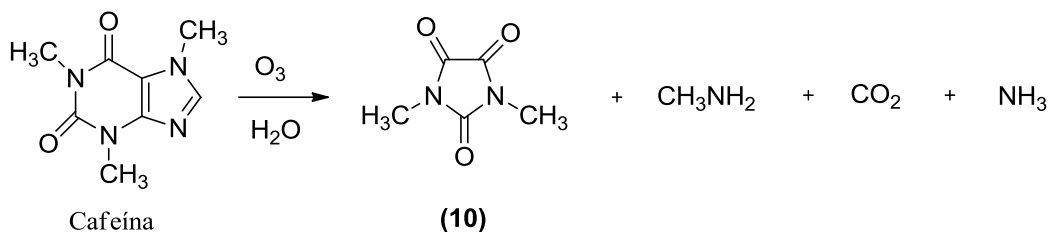


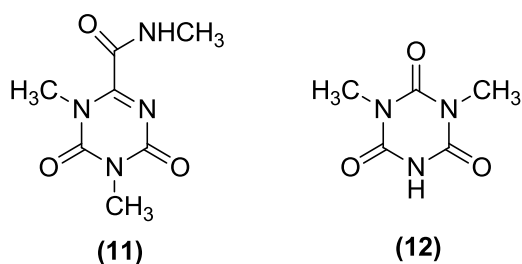
Figura 34: Principais metabolitos da cafeína.⁸⁷

A oxidação da cafeína tem sido bastante estudada. Em 1890, Leipen tratou uma solução aquosa de cafeína com ozono e observou a formação de quatro produtos, o ácido dimetilparabânico (DMPA) **(10)**, dimetilamina, amônia e dióxido de carbono (Esquema 19).⁹¹



Esquema 19

No mesmo período, outros autores referiram que o DMPA era o produto final, estável obtido por oxidação da cafeína em variadíssimas condições experimentais. Em 1979, Shapiro e colaboradores realizaram estudos de oxidação da cafeína com ozono em várias condições, tendo observado que, na maioria dos casos, o DMPA era o produto maioritário. Contudo, em certas condições, eram obtidos outros dois produtos maioritários, o composto **(11)** e o composto **(12)**.⁹¹



Em 2005, Dalmázio e colaboradores realizaram reacções de fotólise onde observaram novamente a formação do ácido dimetilparabânico **(10)** como produto maioritário.⁹²

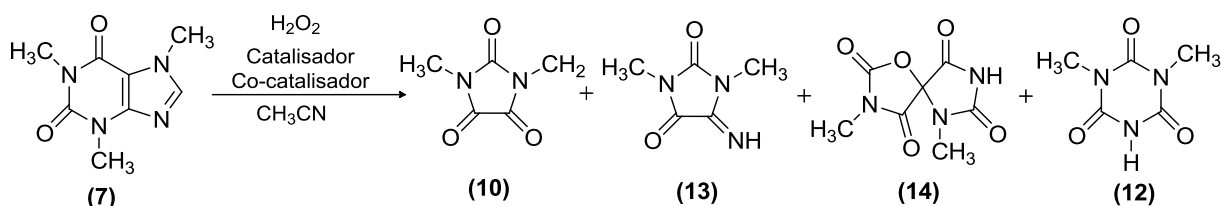
Atendendo a que a oxidação da cafeína na presença de modelos biomiméticos não se encontra descrita na literatura, pareceu-nos importante realizar a sua oxidação na presença de metaloporfirinas sintéticas.

Os processos de oxidação da cafeína foram realizados de acordo com as condições pré-estabelecidas na Tabela 1, usando 0,1 mmol de substrato e razões molares substrato/catalisador 50, 100 e 150.

No seguimento do que foi realizado com a carbamazepina, as reacções foram inicialmente acompanhados por TLC. Foram adicionados 0,5 equivalentes de H_2O_2 em intervalos regulares de 15 minutos e o estado do catalisador foi periodicamente avaliado por UV-Vis. Terminou-se a adição de H_2O_2 quando a conversão do substrato não evidenciou alteração em duas análises sucessivas ou quando se observava, por UV-Vis, que o catalisador se tinha convertido totalmente na sua forma não activa.

As reacções de oxidação da cafeína foram também acompanhadas por GC-FID e por GC-MS, tendo sido identificados vários produtos (Esquema 20), dos quais **(10)**, **(13)** e **(14)** são maioritários. Os produtos foram separados por TLC preparativo e caracterizados.

Foi ainda possível identificar por espectrometria de massa a formação do composto **(12)**.



Esquema 20

Verificou-se também que, nesta reacção, os catalisadores apresentavam selectividades diferentes. Quando o catalisador utilizado era o complexo $Mn(TDCPP)Cl$ o produto maioritário era o composto espiro **(14)**; quando, por sua vez, se utilizava o complexo $Mn(TPFPP)Cl$, o produto maioritário era o ácido dimetilparabânico (DMPA) **(10)**.

Nas Figuras 35 e 36 apresentam-se os cromatogramas de GC-MS que mostram a formação dos vários produtos de oxidação da cafeína para a reacção catalisada pelo complexo $Mn(TPFPP)Cl$ e $Mn(TDCPP)Cl$, respectivamente.

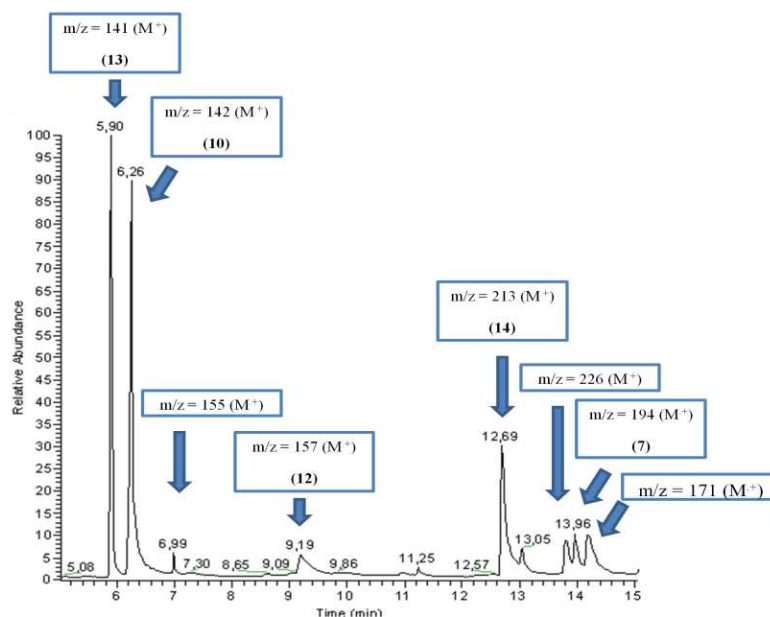


Figura 35: Cromatograma de GC-MS da mistura reaccional após 6 h para a reacção de oxidação da cafeína catalisada pelo complexo Mn(TPFPP)Cl.

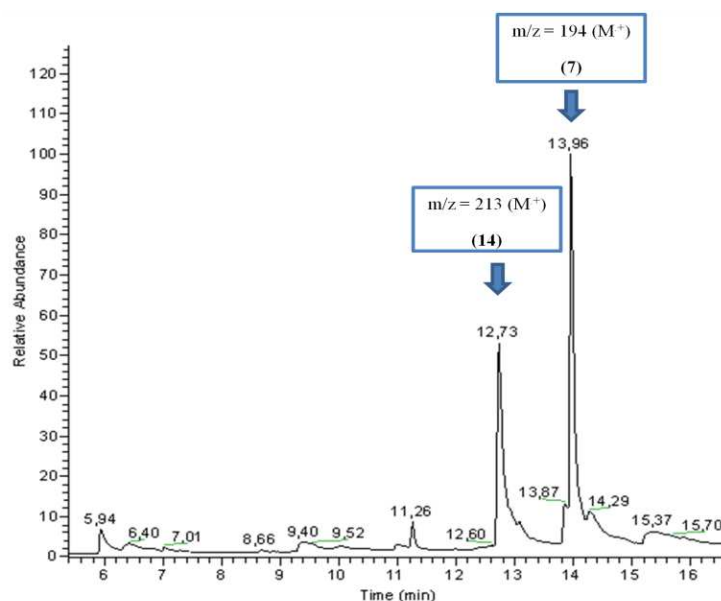


Figura 36: Cromatograma de GC-MS da mistura reaccional após 7 h para a reacção de oxidação da cafeína catalisada pelo complexo Mn(TDCPP)Cl.

Na Tabela 4 apresentam-se os resultados obtidos para a oxidação catalítica da cafeína. A conversão da cafeína foi determinada por HPLC e a proporção entre os produtos caracterizados foi calculada por RMN de ^1H .

Tabela 4: Resultados obtidos na oxidação da cafeína com H_2O_2 catalisada pelos complexos $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$ e $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$.

Catalisador	Razão molar Sub/Cat	H_2O_2 (eq.)	Tempo (horas)	Conversão (%)	Proporção (10):(13):(14)	TON	TOF ^(a) (s^{-1})
$\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$	50	20	10	88	26:7:67	44	$3,6 \times 10^{-3}$
	100	20	10	84	22:6:71	84	$6,4 \times 10^{-3}$
	150	20	10	78	22:5:72	117	$7,9 \times 10^{-3}$
$\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$	50	14	7	100	64:15:21	50	$7,4 \times 10^{-3}$
	100	14	7	95	56:11:33	95	$1,4 \times 10^{-2}$
	150	14	7	89	65:9:25	134	$2,0 \times 10^{-2}$

^(a) Os TOF (s^{-1}) foram calculados ao fim de 1 hora de reacção.

Na Figura 37 está representado o gráfico da percentagem (%) de conversão da cafeína em função do tempo, para o caso da $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$, onde se pode observar que, nas condições já referidas, se obtêm conversões bastante razoáveis. Para o caso das razões molares substrato/catalisador 50 e 100, a conversão da cafeína é superior a 80%. Mesmo quando temos menor quantidade de catalisador (razão substrato/catalisador 150), é possível obter uma conversão de cafeína já muito próxima dos 80%.

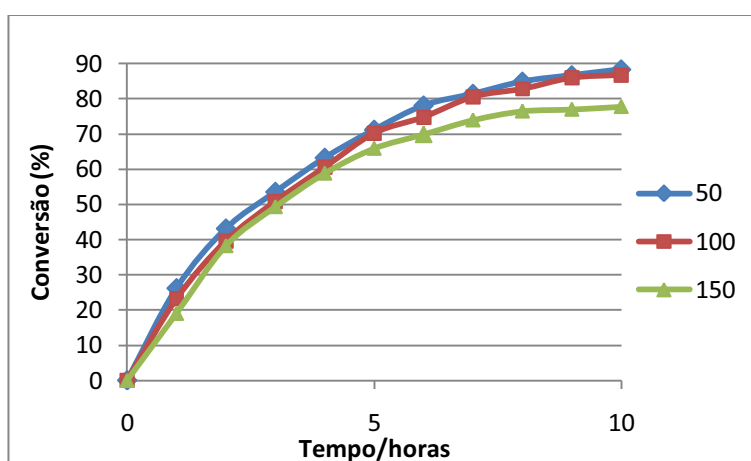


Figura 37: Representação da conversão da cafeína ao longo do tempo para as três razões molares substrato/catalisador estudadas, usando o catalisador $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$.

Na Figura 38 está representado o gráfico da percentagem (%) de conversão da cafeína em função do tempo, para o caso da $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$. Neste caso as conversões são praticamente totais e os tempos de reacção são significativamente menores. No caso da razão substrato/catalisador 50 obtém-se mesmo a conversão total da cafeína.

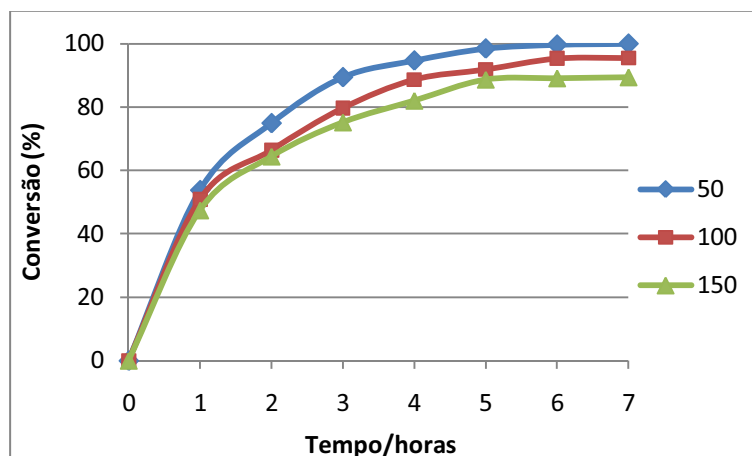


Figura 38: Representação da conversão da cafeína ao longo do tempo para as três razões molares substrato/catalisador estudadas, usando o catalisador $\text{Mn}(\text{TPFPP})\text{Cl}$.

A cafeína e os produtos de oxidação foram caracterizados por espectrometria de massa, RMN de ^1H , ^{13}C e estudos bidimensionais de HMBC e HSQC.

O ácido dimetilparabânico (**10**) apresenta uma estrutura perfeitamente simétrica e por isso, no RMN de ^1H , surge apenas um sinal em forma de singuleto que corresponde à ressonância dos prótons dos grupos metilo a δ 3,18 ppm (Figura 39).

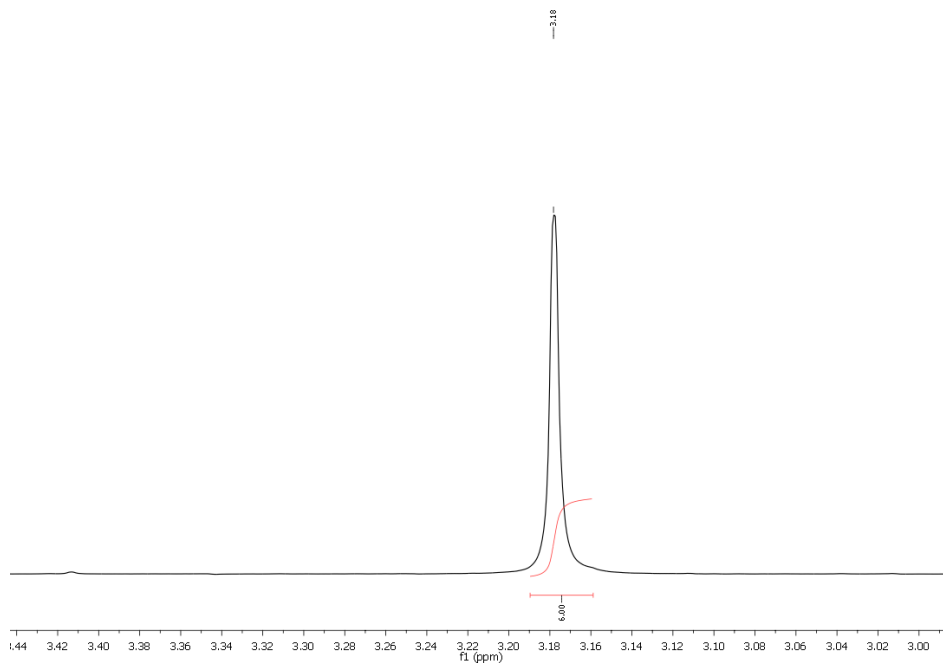


Figura 39: Espectro de RMN de ^1H do ácido dimetilparabânico (**10**).

Da mesma forma, no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 40) vamos ter apenas 3 sinais:

- Um sinal na zona alifática, a δ 25,0 ppm correspondente à ressonância dos carbonos dos dois grupos metilo;
- Um sinal a δ 154,0 ppm correspondente à ressonância do carbono do grupo carbonilo C-2;
- Um sinal a δ 156,9 ppm, com maior intensidade, que corresponde à ressonância dos carbonos dos grupos carbonilos C-4 e C-5.

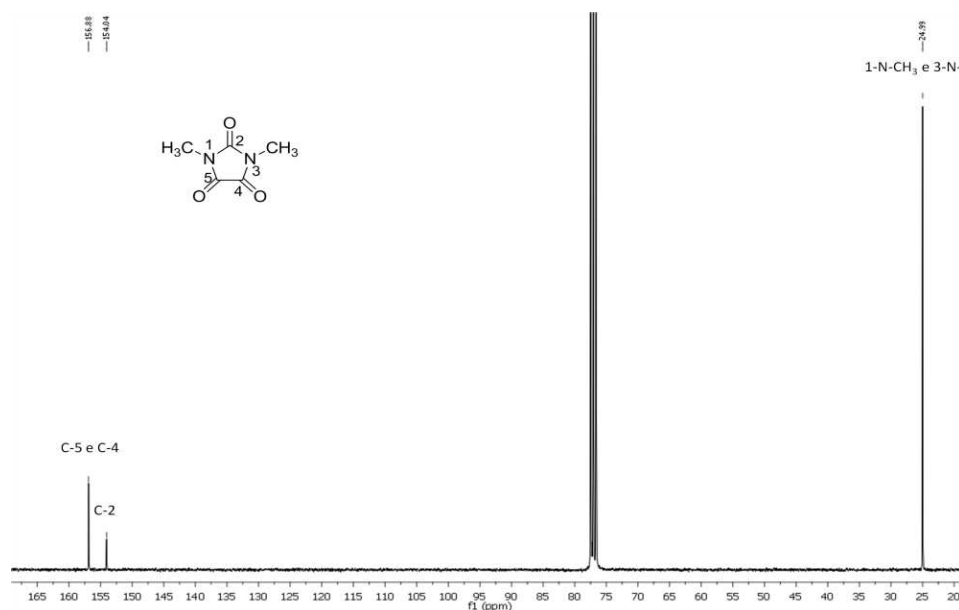


Figura 40: Espectro de RMN de ^{13}C do ácido dimetilparabânico (10).

No espectro de massa (Figura 41) é possível identificar o pico correspondente ao ião molecular (M^+) com $m/z = 142$ e as sucessivas fragmentações. Apresentam-se nos Esquemas 21-23, os mecanismos propostos para as várias fragmentações.^{91,93}

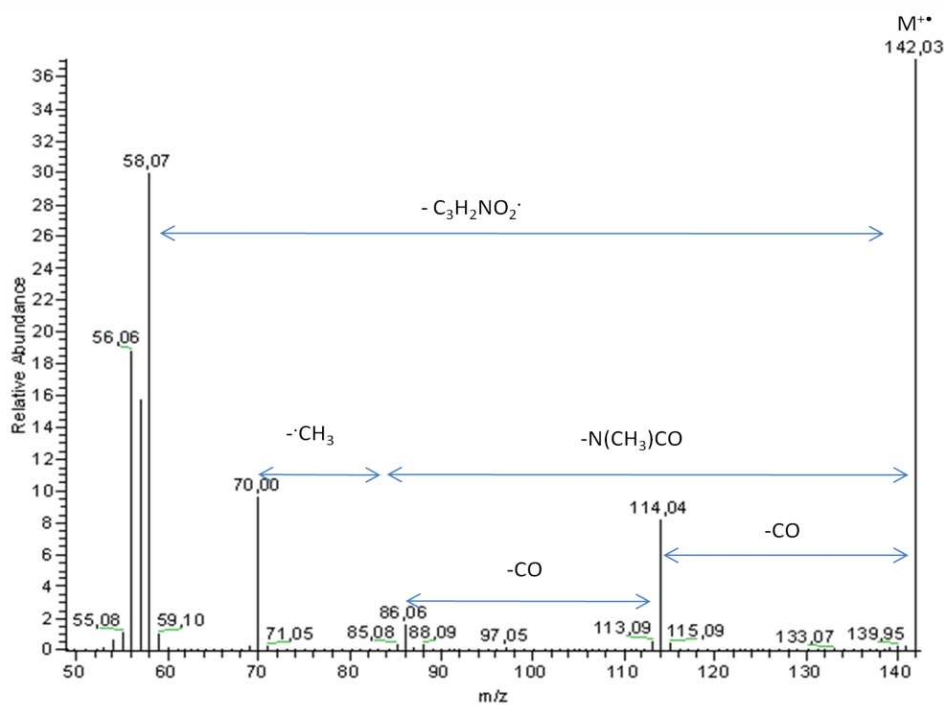
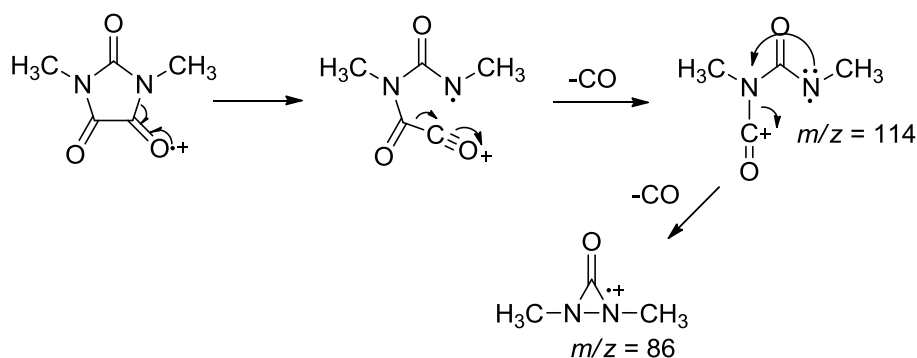


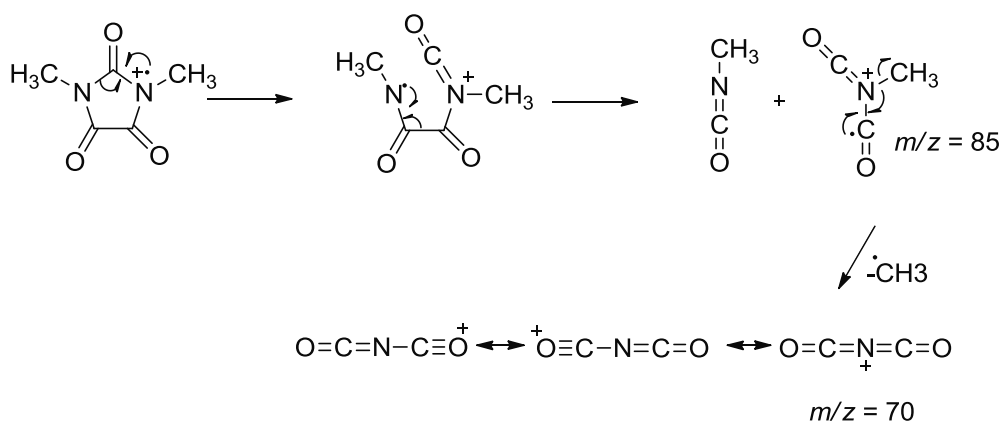
Figura 41: Espectro de massa do ácido dimetilparabânico (10).

A formação dos fragmentos com $m/z = 114$ e $m/z = 86$ podem ser justificadas por perdas sucessivas de CO (Esquema 21).



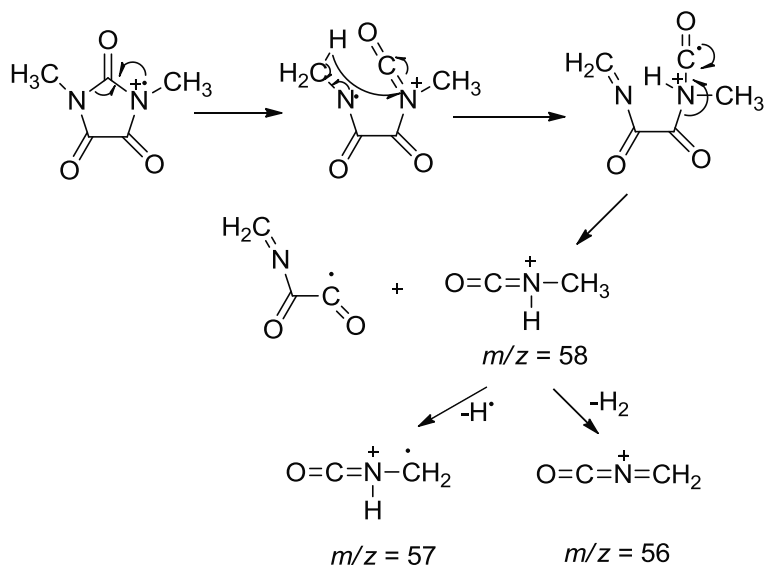
Esquema 21

A formação do fragmento com $m/z = 70$ poderá resultar de uma clivagem α iniciada no radical formado por ionização no átomo de azoto, com saída do grupo $\text{N}(\text{CH}_3)\text{CO}$ dando origem a um fragmento com $m/z = 85$. A subsequente perda do radical metilo origina o ião com $m/z = 70$ (Esquema 22).



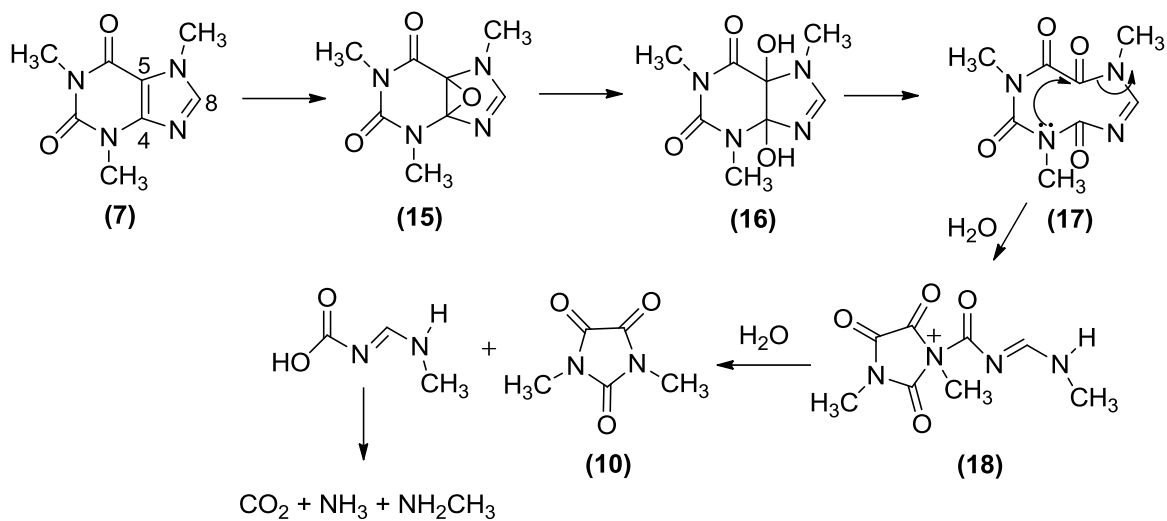
Esquema 22

Por outro lado, a clivagem α seguida de um rearranjo 1,5 de hidrogénio (rearranjo de McLafferty) pode resultar na formação do ião com $m/z = 58$ (Esquema 23).



Esquema 23

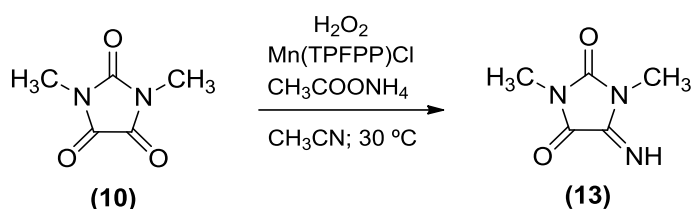
No Esquema 24 apresenta-se o mecanismo proposto para a formação do ácido dimetilparabânico (10).⁹² A conversão da cafeína no ácido dimetilparabânico deverá iniciar-se por epoxidação da ligação dupla C4-C5, que levará à formação do diol (16). Este diol, como apresenta grupos hidroxilo em posições adjacentes, permite facilmente que ocorra a clivagem oxidativa carbono-carbono conduzindo à formação do intermediário (17). O posterior ataque nucleofílico ao grupo carbonilo permite a formação do intermediário (18) que, por hidrólise, conduz à formação do ácido dimetilparabânico (10).



Esquema 24

Outro composto identificado foi a imidazolidina (**13**). Observou-se que este composto era bastante instável e, passado algum tempo, se convertia no ácido dimetilparabânico. Pensou-se por isso que a origem dele estivesse no ácido dimetilparabânico e que pudesse resultar da reacção deste com o acetato de amónio presente no meio reaccional. Assim, resolveu-se fazer a reacção com outros co-catalisadores. Um dos co-catalisadores usados foi o imidazol, por não haver possibilidade de se formar NH_3 ; o outro foi o benzoato de amónio. Esperava-se que, ao usar este último, a formação do composto (**13**) fosse equivalente à que se forma no caso do acetato de amónio. O que se observou foi que, quando se usa o imidazol, a quantidade do composto (**13**) formada é quase vestigial, enquanto que quando se usa o benzoato de amónio a quantidade de imina formada é comparável à que se forma quando se usa o acetato de amónio.

Com o objectivo de se confirmar a formação deste composto resolveu-se fazer reagir o ácido dimetilparabânico com acetato de amónio, nas mesmas condições das reacções anteriores e observou-se que, passadas 6 horas de reacção, grande parte do ácido dimetilparabânico tinha já sido convertida na imidazolidina (**13**) (Esquema 25).



Esquema 25

Devido à instabilidade do composto (**13**) não foi possível isolá-lo completamente do ácido dimetilparabânico para posterior caracterização por RMN. Contudo, uma vez identificados os sinais do ácido dimetilparabânico, não foi difícil identificar os sinais do composto (**13**).

A estrutura do composto (**13**) já não apresenta simetria, por isso espera-se observar no espectro de RMN de ^1H dois sinais para a ressonância dos protões dos grupos metilo. O sinal correspondente à ressonância dos protões do grupo metilo 1-N- CH_3 surge a

δ 3,23 ppm e o sinal correspondente à ressonância dos prótons do grupo metilo 3-N-CH₃ surge a δ 3,14 ppm. Pode ainda observar-se o sinal da ressonância do próton lábil do grupo imino a δ 8,83 ppm. O sinal que corresponde à ressonância dos prótons dos grupos metilo do ácido dimetilparabânico surge a δ 3,19 ppm (Figura 42).

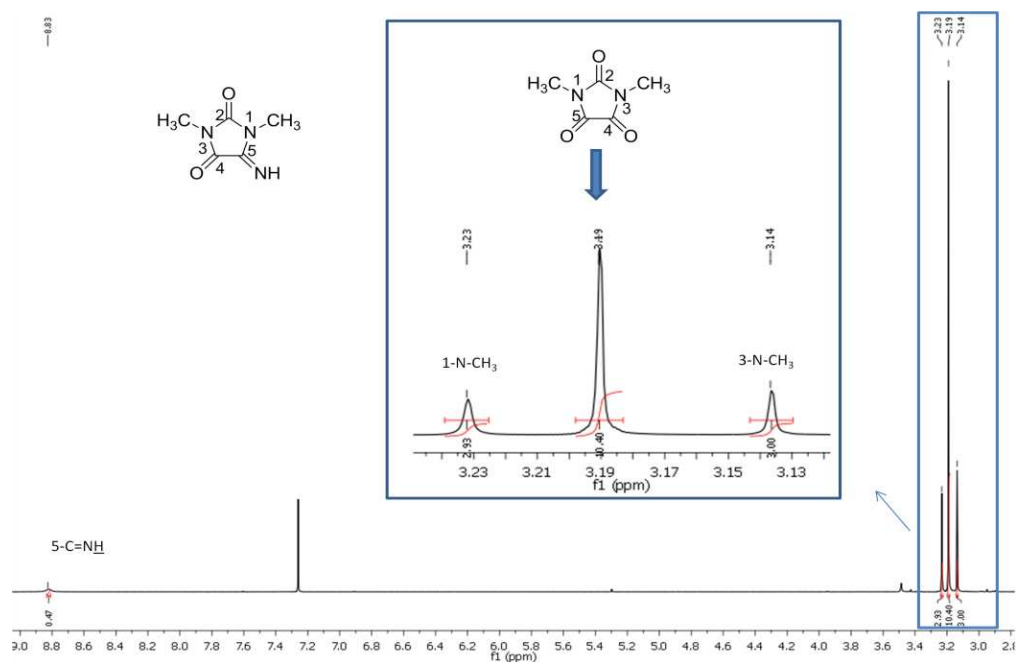


Figura 42: Espectro de RMN de ¹H do composto (13), contaminado com o composto (10).

No espectro de RMN de ¹³C é possível identificar, na zona alifática (Figura 43):

- Um sinal a δ 24,9 ppm correspondente à ressonância do carbono do grupo metilo 3-N-CH₃;
- Um sinal a δ 25,5 ppm correspondente à ressonância do carbono do grupo metilo 1-N-CH₃.
- O sinal que corresponde à ressonância dos carbonos dos grupos metilo do ácido dimetilparabânico, a δ 25,0 ppm.

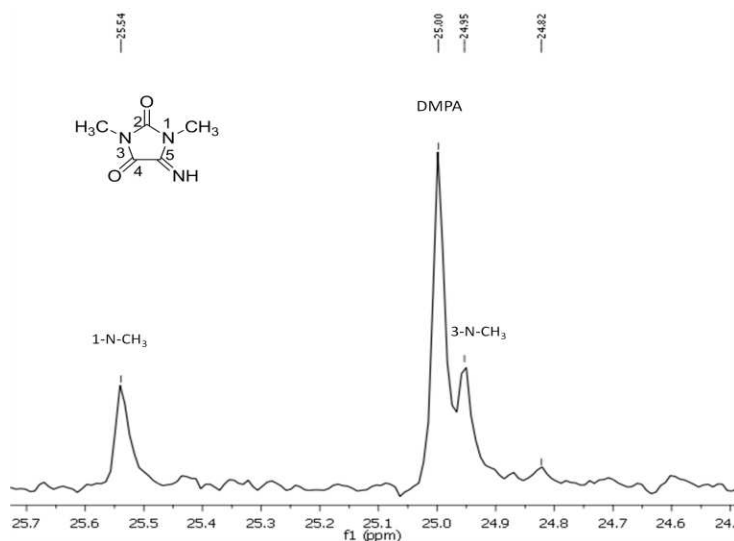


Figura 43: Ampliação da zona alifática do espectro de RMN de ^{13}C do composto (13), contaminado com o composto (10).

Na Figura 44 encontra-se a ampliação da zona do espectro de RMN de ^{13}C onde surgem os restantes sinais. É possível identificar:

- Um sinal a δ 153,0 ppm, que corresponde à ressonância do carbono C-5;
- Um sinal a δ 154,8 ppm, que corresponde à ressonância do carbono C-2;
- Um sinal a δ 156,6 ppm, que corresponde à ressonância do carbono C-4.

Surgem também os sinais correspondentes à ressonância dos carbonos do ácido dimetiparabânico (a δ 154,0 ppm e a δ 156,8 ppm).

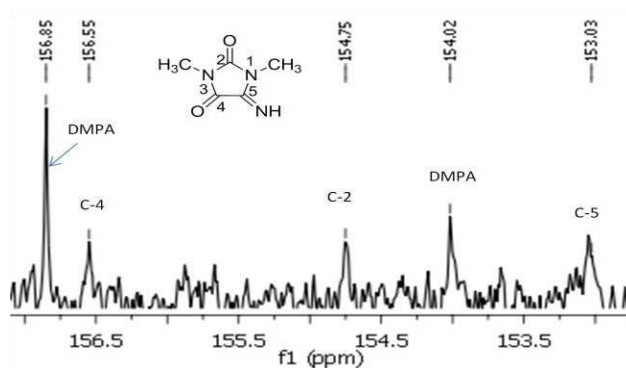


Figura 44: Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C do composto (13), contaminado com o composto (10).

O assinalamento das ressonâncias de RMN de ^1H e de ^{13}C foi feito com o auxílio do espectro bidimensional HMBC (Figura 45). Os carbonos do ácido dimetilparabânico são facilmente identificados pela correlação destes com os prótons dos grupos metilo (vermelho). Observa-se que um dos carbonos está correlacionado com os dois grupos metilo do composto (**13**), e este só pode ser o carbono C-2 (verde). Faltava assinalar as ressonâncias dos carbonos C-4 e C-5 e dos prótons dos grupos metilo. Para o carbono C-4 espera-se um desvio químico semelhante ao dos outros grupos carbonilo já identificados, por isso deverá surgir a δ 156,6 ppm. A ressonância do carbono C-5, por exclusão de partes deverá surgir a δ 153,0 ppm. Pelo espectro bidimensional de HMBC podemos observar que o carbono C-5 está correlacionado com um grupo metilo do composto (**13**), que só poderá ser o 1-N-CH₃ e o carbono C-4 está, por sua vez, correlacionado com o outro grupo metilo (3-N-CH₃)

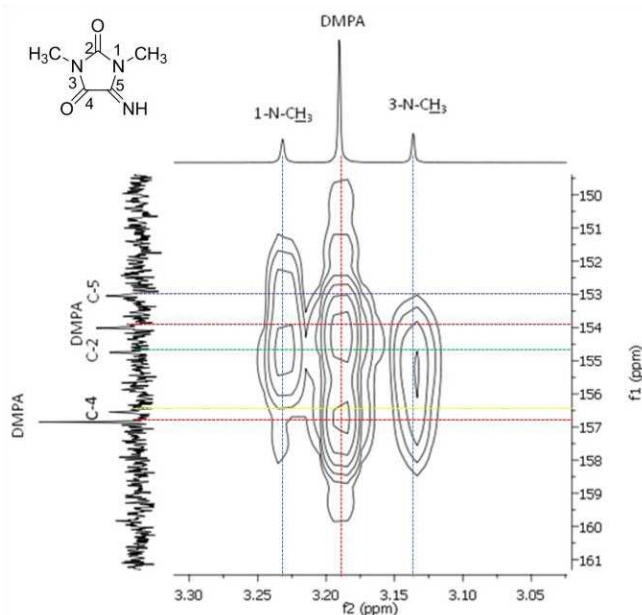


Figura 45: Ampliação do espectro bidimensional de HMBC para o composto (**13**), contaminado com o composto (**10**).

No espectro de massa (Figura 46) é possível identificar o pico correspondente ao íon molecular (M^{+}) com $m/z = 141$ e as sucessivas fragmentações. Apresentam-se, nos Esquemas 26 - 29, os mecanismos propostos para as várias fragmentações.⁹³

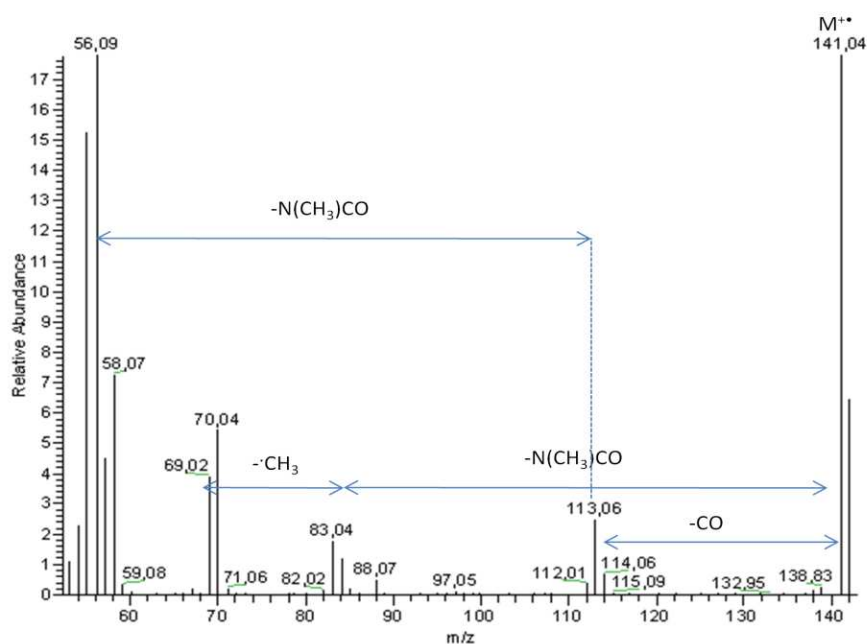
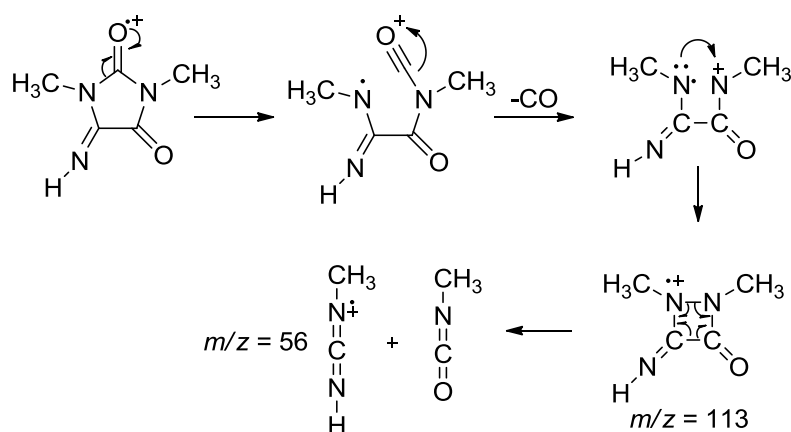


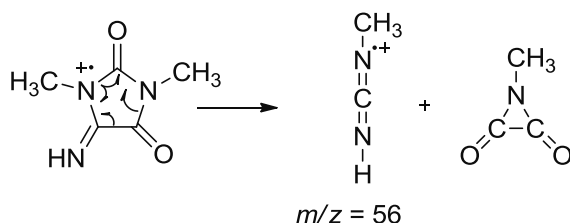
Figura 46: Espectro de massa do composto (13).

A formação do fragmento com $m/z = 113$ pode ser justificada, tal como no caso do ácido dimetilparabânico, por uma perda de CO. Este, por sua vez, poderá originar o fragmento com $m/z = 56$, por perda de $N(CH_3)CO$ (Esquema 26).



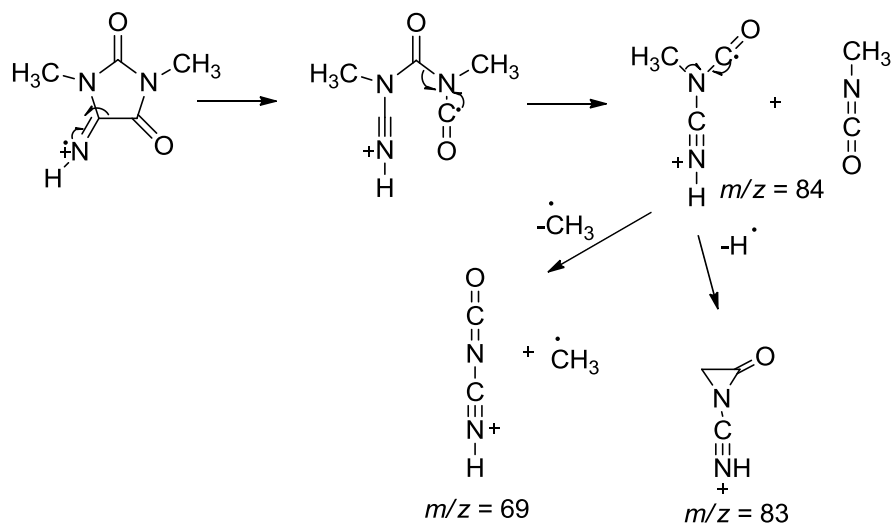
Esquema 26

A formação do fragmento com $m/z = 56$ poderá também resultar da clivagem α partindo directamente do ião molecular (Esquema 27).



Esquema 27

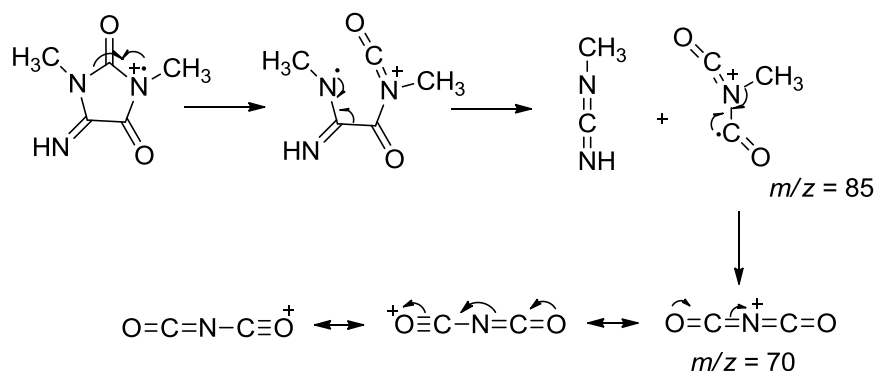
Quando a ionização ocorre no átomo de azoto do grupo imina pode também resultar uma clivagem α com saída do grupo $N(CH_3)CO$ originando o fragmento com $m/z = 84$ que, por sua vez, irá originar os fragmentos com $m/z = 69$ e $m/z = 83$ por perda de um radical metilo ou perda de um radical hidrogénio, respectivamente (Esquema 28).



Esquema 28

O fragmento com $m/z = 70$ poderá ter origem num mecanismo idêntico ao já descrito para o caso do ácido dimetilparabânico no Esquema 22. Se a ionização ocorrer no átomo

de azoto como indicado no Esquema 29, haverá a formação do fragmento com $m/z = 85$ que, seguidamente, por perda do radical metilo originará o fragmento com $m/z = 70$.



Esquema 29

A caracterização do composto espiro (**14**) foi de extrema dificuldade. O composto foi isolado e caracterizado por RMN de ^1H , de ^{13}C , HMBC e HSQC e também por espectrometria de massa, mas apenas por cristalografia de raios-X foi possível determinar com certeza a estrutura deste composto (Figura 47).

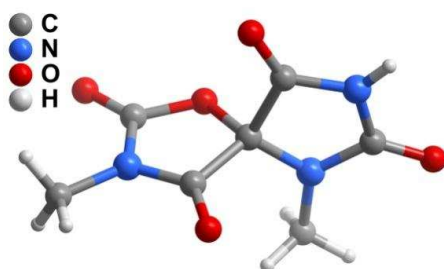


Figura 47: Estrutura obtida por cristalografia de raios-X do composto espiro (**14**).

Pelo espectro de RMN de ^1H é possível observar os dois sinais para a ressonância dos prótons dos grupos metilo. O sinal correspondente à ressonância dos prótons do grupo metilo 3-N-CH₃ surge um pouco mais desprotegido a δ 3,23 ppm e o sinal correspondente à ressonância dos prótons do grupo metilo 6-N-CH₃ surge a δ 2,91 ppm (Figura 48).

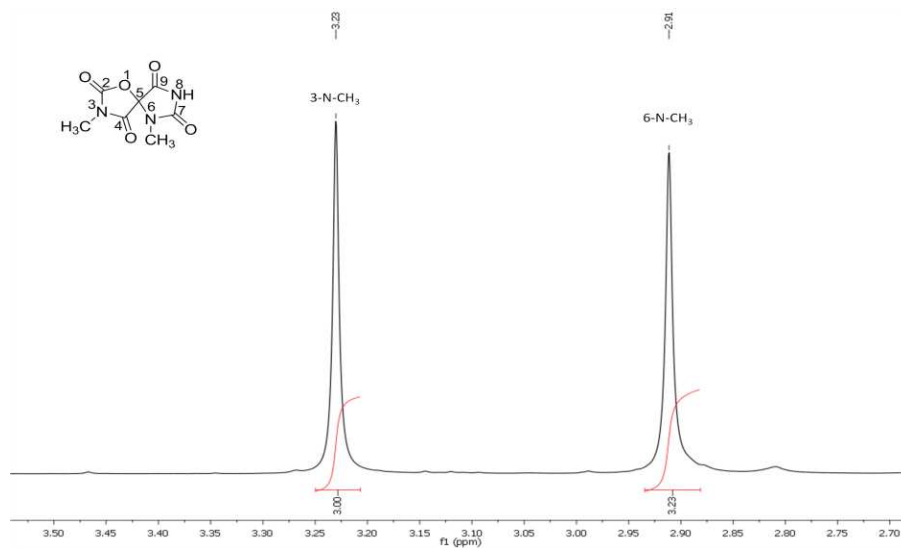


Figura 48: Espectro de RMN ^1H do composto **(14)**.

No espectro de RMN de ^{13}C (Figura 49) é possível identificar:

- Dois sinais na zona alifática correspondentes à ressonância dos carbonos dos grupos metilo, a δ 25,4 ppm para o carbono do grupo metilo 6-N-CH₃ e a δ 27,1 ppm para o grupo metilo 3-N-CH₃;
- Um sinal a δ 91,0 ppm, que corresponde à ressonância do carbono terciário C-5;
- Um sinal a δ 152,1 ppm, que corresponde à ressonância do carbono do grupo carbonilo C-2;
- Um sinal a δ 154,0 ppm, que corresponde à ressonância do carbono do grupo carbonilo C-7;
- Os sinais correspondentes à ressonância dos carbonos dos grupos carbonilo C-4 e C-9 que surgem mais desprotegidos a δ 164,0 ppm e 163,1 ppm, respectivamente.

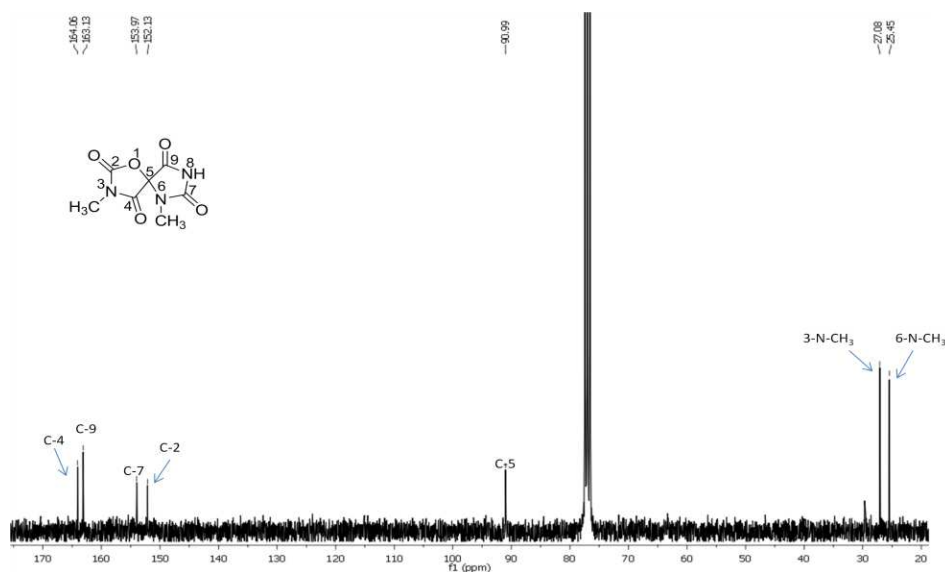


Figura 49: Espectro de RMN ^{13}C do composto (**14**).

O assinalamento das ressonâncias dos carbonos dos grupos metilo do composto espiro (**14**) foi feito com o auxílio do espectro bidimensional de HSQC (Figura 50). O carbono do grupo metilo 6-N-CH₃ está correlacionado com os prótons do grupo metilo 6-N-CH₃ e o carbono do grupo metilo 3-N-CH₃ está correlacionado com os prótons do grupo metilo correspondente.

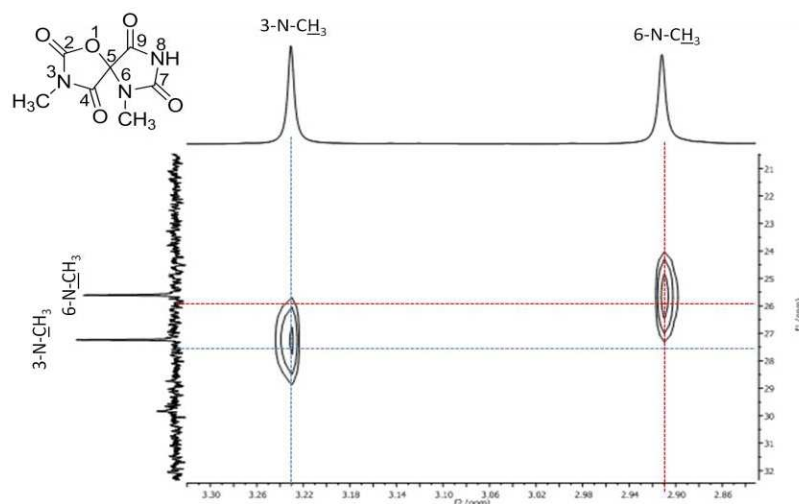


Figura 50 Ampliação do espectro bidimensional de HSQC para o composto espiro (**14**).

O assinalamento das ressonâncias dos prótons e dos outros carbonos foi feito com a ajuda do espectro bidimensional de HMBC (Figura 51).

Pelo espectro de HMBC podemos verificar que o carbono que surge a δ 91,0 ppm – que só poderá ser o carbono C-5 – está correlacionado com os prótons de um dos grupos metilo (vermelho). Esse grupo metilo será o 6-N-CH₃, que está também correlacionado com outro carbono que é o C-7 a δ 154,0 ppm (amarelo).

Os prótons do outro grupo metilo estão correlacionados com os carbonos C-2 e C-4. Por comparação com a outra parte da molécula, o carbono C-2 terá um desvio químico próximo do carbono C-7 que surge a δ 154,0 ppm. Estes carbonos apresentam ambientes químicos idênticos, o carbono C-7 está ligado a dois átomos de azoto e o carbono C-2 está ligado a um átomo de azoto e um átomo de oxigénio. Com isto conclui-se que o carbono C-2 surge a δ 152,1 ppm e o carbono C-4 surge a δ 164,0 ppm.

O carbono C-9 é o único que não está correlacionado com os prótons de nenhum dos grupos metilo. Seguindo o raciocínio anterior terá também um desvio químico muito próximo do desvio químico do carbono C-4. Assim, o carbono C-9 surge a δ 163,1 ppm.

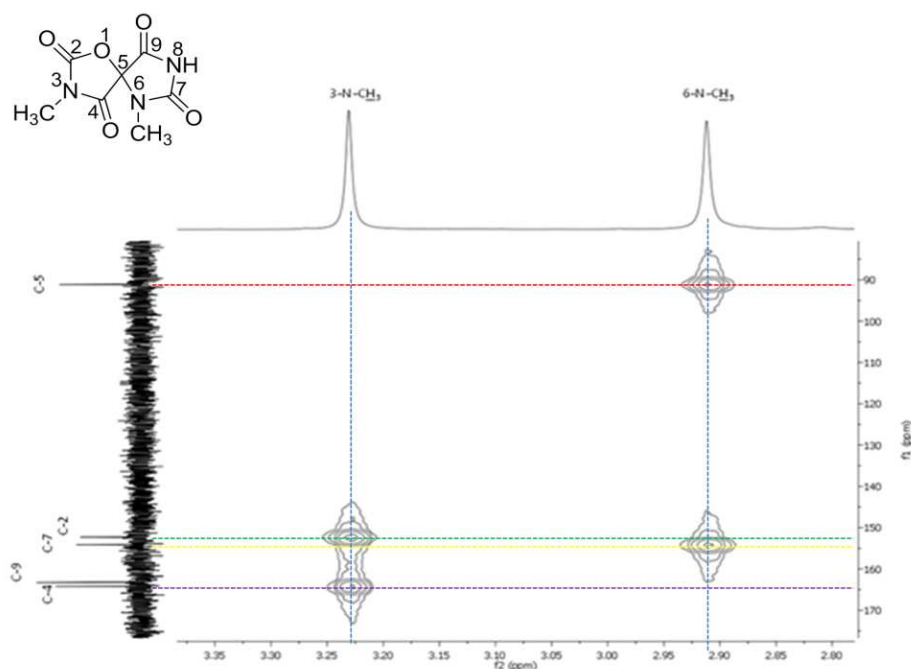


Figura 51: Ampliação do espectro bidimensional de HMBC para o composto espiro (**14**).

Na Figura 52 apresenta-se o espectro de massa do composto espiro (**14**), onde se pode observar o pico do ião molecular com $m/z = 213$ e as sucessivas fragmentações.

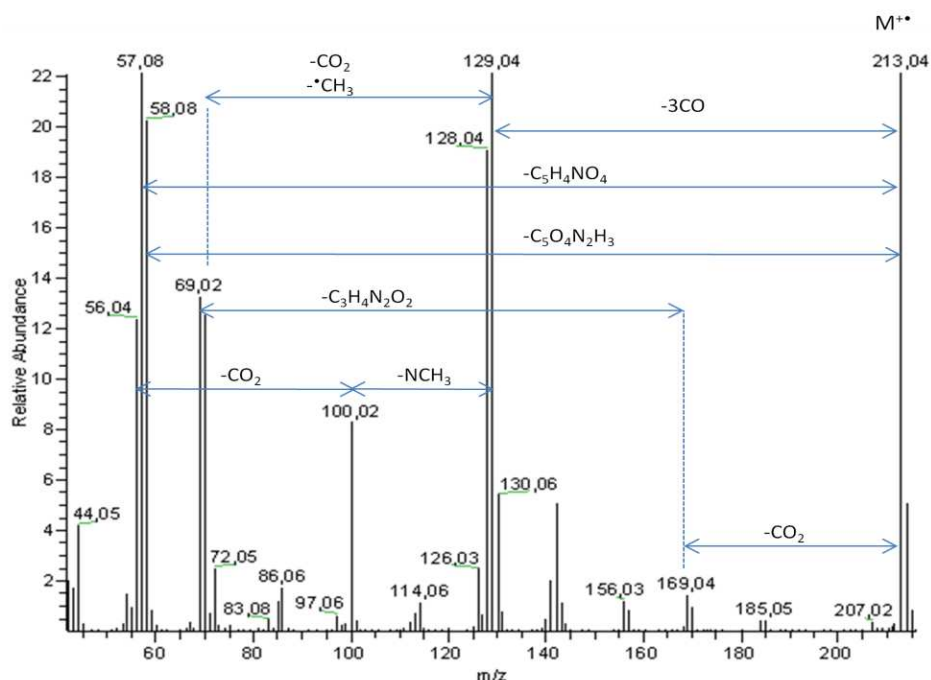
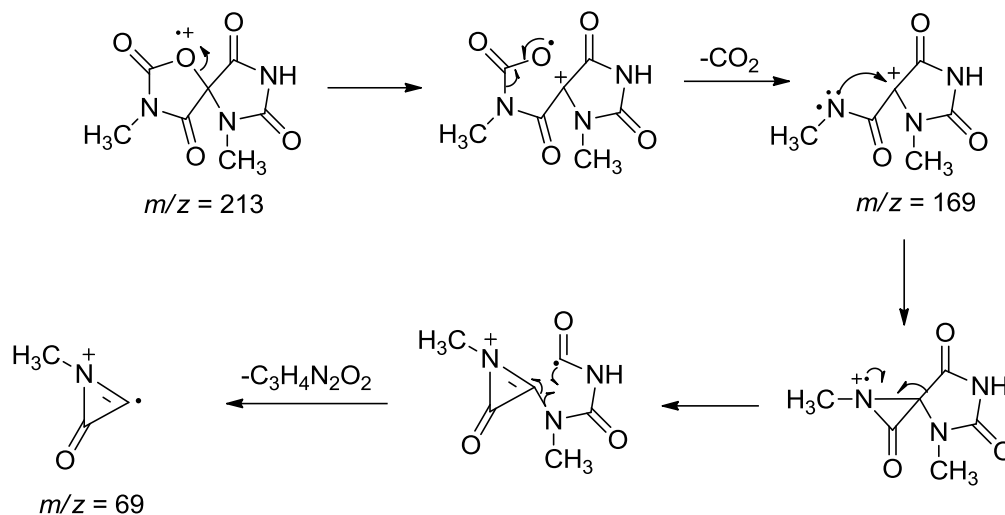


Figura 52: Espectro de massa do composto (**14**).

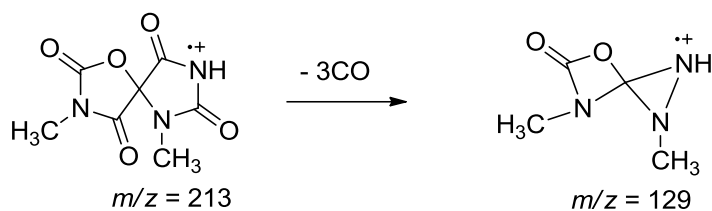
Nos Esquemas 30-34 estão apresentadas algumas propostas mecanísticas que podem justificar alguns dos fragmentos observados no espectro de massa.⁹³

Quando a ionização ocorre no átomo de oxigénio, pode ocorrer clivagem *i* com saída de CO_2 , originando o fragmento com $m/z = 169$. Este, por sua vez poderá originar o fragmento com $m/z = 69$ (Esquema 30).



Esquema 30

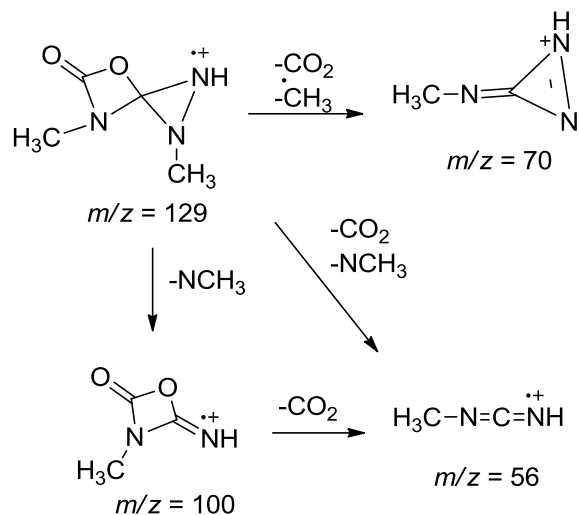
Por três perdas de CO é possível chegar ao fragmento com $m/z = 129$ (Esquema 31).



Esquema 31

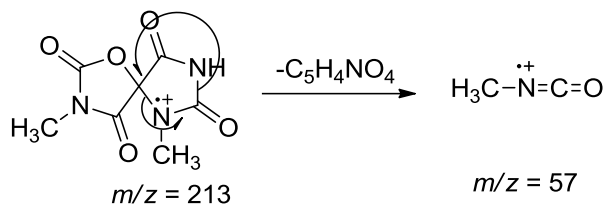
Este fragmento pode, por sua vez, explicar grande parte das outras fragmentações (Esquema 32).

Por exemplo, o fragmento com $m/z = 100$ pode ser justificado por perda de NCH_3 . O fragmento com $m/z = 56$ poderá resultar de uma perda de CO_2 partindo do fragmento com $m/z = 100$, ou de uma perda simultânea de NCH_3 e CO_2 , partindo directamente do fragmento com $m/z = 129$.



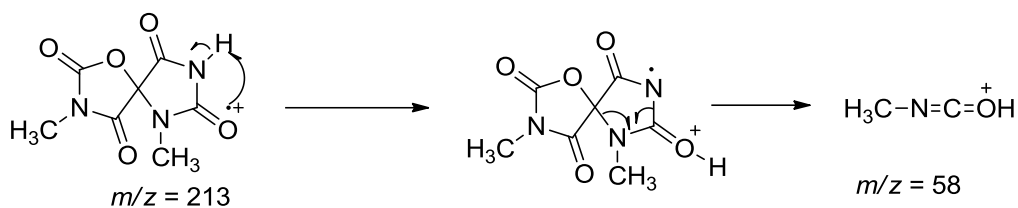
Esquema 32

O íon molecular pode originar o fragmento com $m/z = 57$, como indicado no Esquema 33.



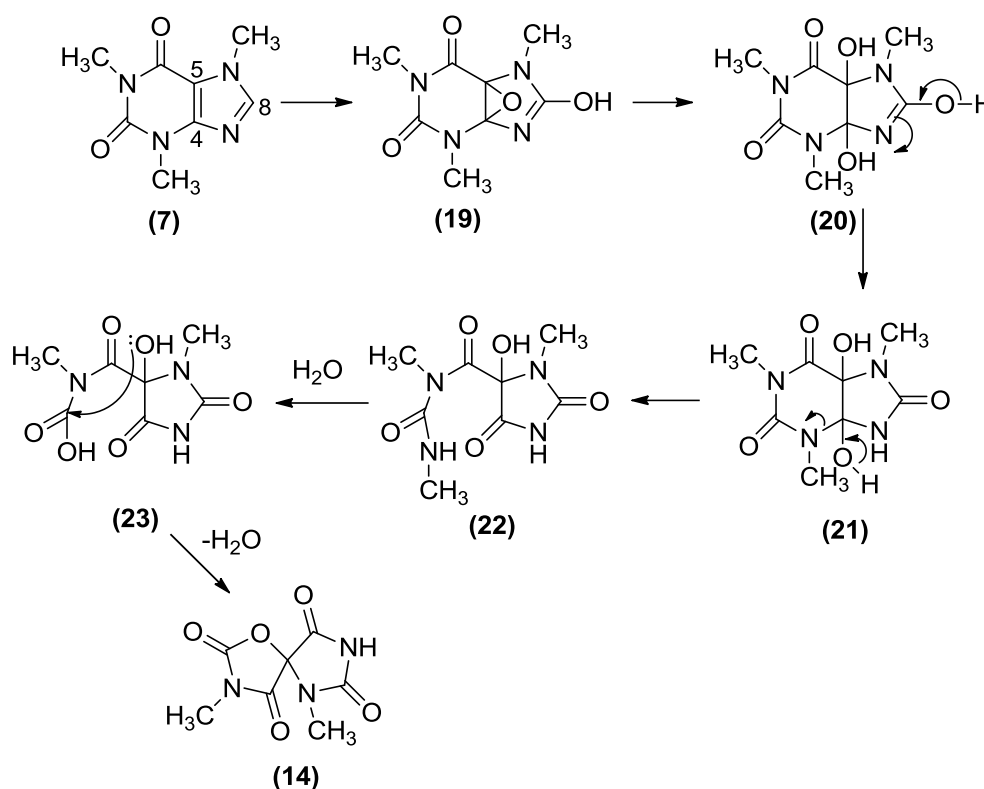
Esquema 33

Por rearranjo 1,3, pode ocorrer a migração do átomo de hidrogénio do átomo de azoto para o grupo carbonilo e originar o fragmento com $m/z = 58$ (Esquema 34).



Esquema 34

No Esquema 35 encontra-se representado o mecanismo proposto para a formação do composto espiro **(14)**. O mecanismo deverá iniciar-se por epoxidação na ligação dupla C4-C5 e hidroxilação em C8 originando o intermediário **(19)**. Este, por abertura do anel do epóxido seguido de um equilíbrio tipo ceto-enólico pode originar, respectivamente, os intermediários **(20)** e **(21)**. A cisão da ligação C-N do intermediário **(21)** origina o intermediário **(22)** que, por hidrólise, forma o ácido **(23)**. Este, por lactonização, conduz à formação do composto espiro **(14)**.



Esquema 35

Foi possível caracterizar ainda o composto **(12)** por espectrometria de massa. Na Figura 53 está representado o espectro de massa deste composto, onde se pode observar o pico correspondente ao ião molecular com $m/z = 195$ e as sucessivas fragmentações.⁹¹

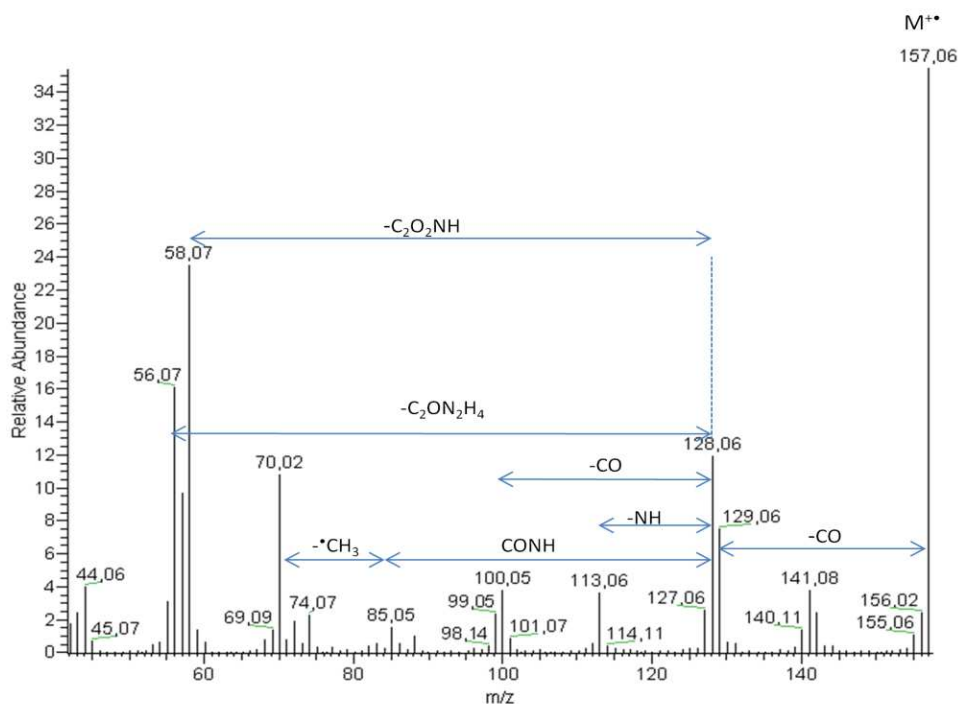
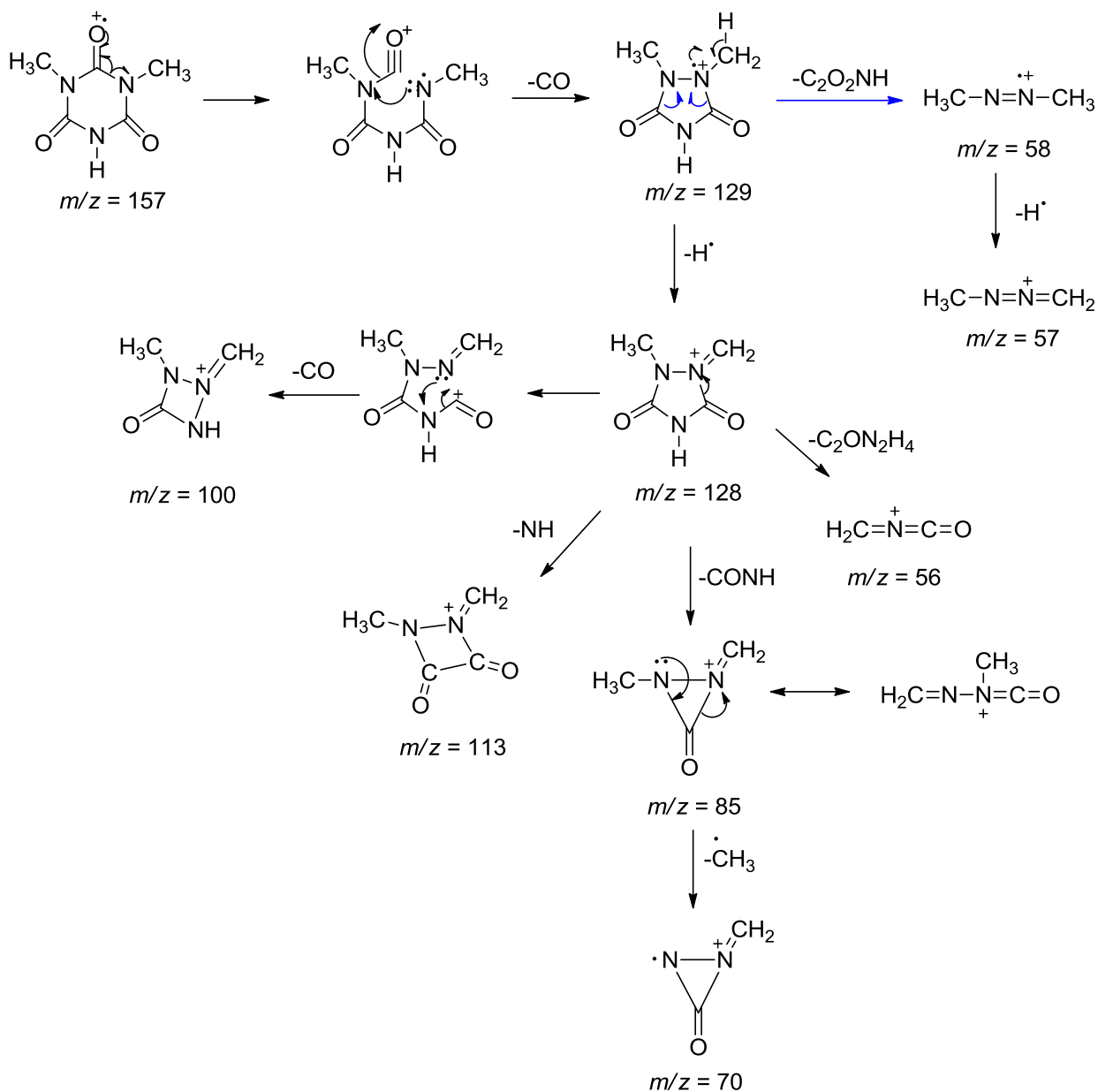


Figura 53: Espectro de massa do composto (12).

No Esquema 36 estão apresentadas algumas propostas mecanísticas que podem justificar alguns dos fragmentos observados no espectro de massa.⁹³

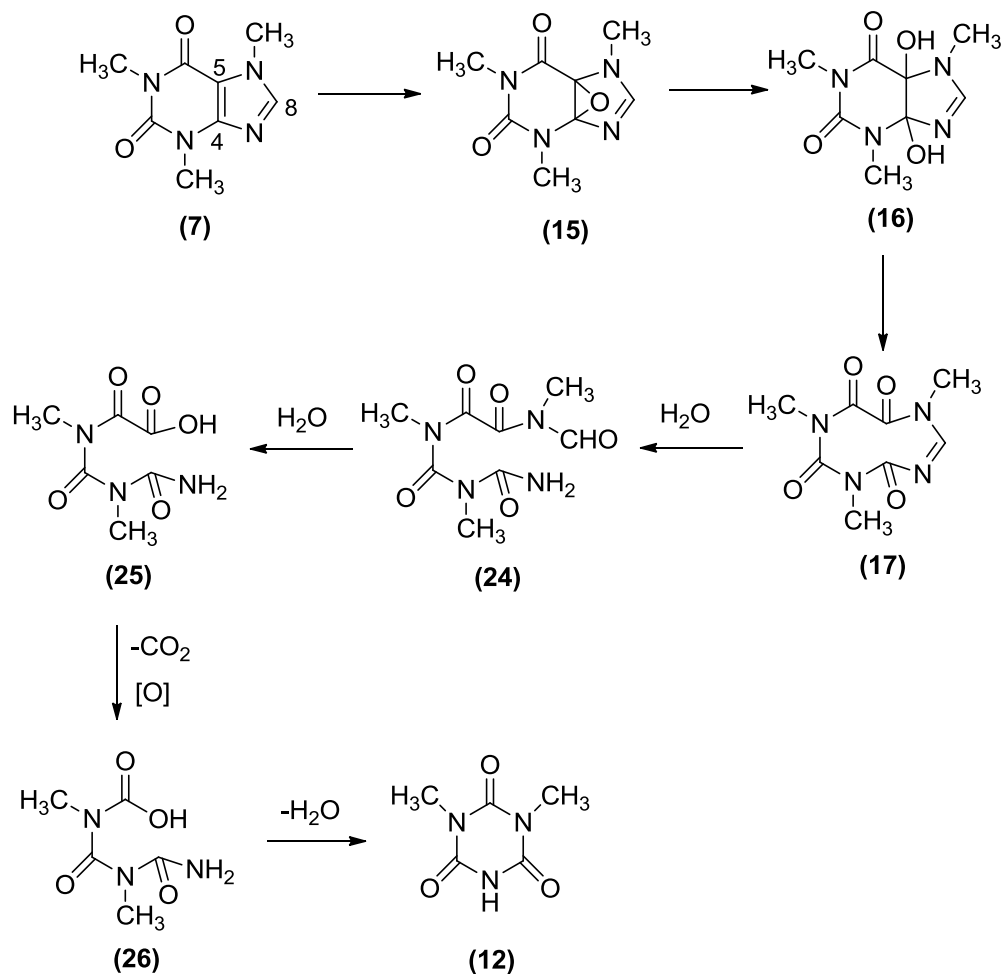
Partindo do ião molecular pode ser justificada a formação do fragmento com $m/z = 129$, por perda de CO . Este, por sua vez, pode justificar a formação do fragmento com $m/z = 58$ por perda de C_2O_2NH , que seguidamente por perda de um radical hidrogénio origina o fragmento com $m/z = 57$. Contudo, se o fragmento com $m/z = 129$ perder um radical hidrogénio origina um fragmento com $m/z = 128$ que irá justificar os restantes fragmentos: $m/z = 100$ (perda de CO); $m/z = 113$ (perda de NH); $m/z = 56$ (perda de $C_2ON_2H_4$); $m/z = 85$ (perda de $CONH$). O fragmento com $m/z = 85$ pode ainda perder um radical metilo originando o fragmento com $m/z = 70$.



Esquema 36

No Esquema 37 está apresentada uma proposta mecanística que poderá justificar a conversão da cafeína no composto **(12)**. O processo deverá iniciar-se por epoxidação da ligação dupla C4-C5, que levará à formação do diol **(16)**. Este, por sua vez, sofre facilmente clivagem oxidativa na ligação C4-C5 conduzindo à formação do intermediário **(17)**, como já foi anteriormente descrito para a formação do ácido dimetilparabânico **(10)** no Esquema 24. A hidrólise da ligação imina (posição 8) e da função amida (posição 5)

conduzirá à formação do intermediário **(25)**. Este α -ceto-ácido **(25)** pode sofrer uma descarboxilação oxidativa, seguindo-se a formação da triona. **(12)** Este tipo de descarboxilação é pouco comum *in vitro*. Contudo estudos têm demonstrado que na presença de oxidantes como o peróxido de hidrogénio este tipo de compostos pode facilmente sofrer descarboxilação oxidativa.⁹⁴



Esquema 37

3.4 Parte experimental

Os reagentes comerciais utilizados não foram sujeitos a qualquer purificação prévia. O acetato de amónio foi comprado à Fluka, o imidazol à Riedel-de Haën e o benzoato de amónio à Acros Organics.

Usou-se o peróxido de hidrogénio (30% m/m, solução aquosa) da Riedel-de Haën. O *cis*-cicloocteno (95%, GC) e o padrão interno, *n*-octano (99%, GC) foram comprados à Aldrich. A carbamazepina foi comprada à Sigma e a cafeína à Merck.

Os solventes utilizados para as extracções e cristalizações foram considerados puros, tendo sido utilizados sem purificação prévia.

Para o acompanhamento das reacções por TLC, foram usadas folhas plásticas revestidas de sílica gel 60 F₂₅₄ da Merck. Na cromatografia de camada fina preparativa foram usadas placas de vidro (20 x 20 cm), revestidas com uma camada de sílica gel 60 F₂₅₄ da Merck com uma espessura de aproximadamente 0,5 mm.

Nas várias cromatografias de camada fina efectuadas, depois da eluição dos compostos, as placas foram observadas à luz ultravioleta, a 254 nm e/ou 366 nm.

Os espectros de ultravioleta-visível foram registados num espectrofotómetro Uvikon 922 em células de vidro de 1 cm, usando acetonitrilo como solvente.

Os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C foram adquiridos num aparelho Bruker AMX 300 e 75,47 MHz. O solvente utilizado foi o CDCl₃ e foi usado como padrão interno o TMS ($\delta = 0$ ppm).

Na cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID) o aparelho usado foi o cromatógrafo de gás Varian 3900. As análises com a técnica de cromatografia gasosa com acoplamento a uma unidade de espectrometria de massa (GC-MS) realizaram-se num aparelho Finnigan Trace GC-MS (Thermo Quest CE Instruments). O gás de arrasto usado em ambos foi hélio (35 cm/s). Utilizou-se uma coluna capilar do tipo DB-5, marca Supelco (30 m x 0,25 mm d.i.; 0,25 μ m de espessura de filme).

No caso das análises por HPLC usou-se uma coluna de fase reversa, com coluna Lichrospher 100 RP-18,5 μ m (Merck), com 250 mm x 4,6 mm (d.i.). A água Milli-Q usada

como eluente foi purificada por um sistema Millipore e o acetonitrilo foi comprado à LabScan.

O monocrystal do composto espiro (**14**) foi recolhido do recipiente de cristalização e imediatamente imerso num óleo de vácuo de grande viscosidade, FOMBLIN Y (LVAC 140/13), adquirido à Sigma-Aldrich. O cristal foi montado em CryoLoops da Hampton Research (Canadá) com a ajuda de estereomicroscópio Stemi 2000 equipado com lentes Carl Zeiss. Os dados de difracção de monocrystal foram recolhidos num difractómetro Brüker, modelo X8 Kappa APEX II, com um detector de área CCD e radiação Mo Ka monocromada pelo uso de um filtro de grafite ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). O equipamento encontrava-se controlado pelo software APEX-2 e estava equipado com um crióstato da Oxford Cryosystems, modelo Series 700, controlado remotamente através do software Cryopad. A imagem adquirida foi processada usando o software SAINT+, e os dados foram corrigidos para absorção usando o método semi-empírico de multi-aquisição implementado no SADABS.

3.4.1 Oxidação do *cis*-cicloocteno (**5**)

Num balão de fundo redondo de 25 mL, colocaram-se o substrato (0,3 mmol), o catalisador [cloro[*meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III)] com razão molar substrato/catalisador 600 ($5,0 \times 10^{-4}$ mmol) e o co-catalisador (acetato de amónio, ≈ 15 mg) em acetonitrilo com o qual se fez um volume final de 2 mL. A solução foi mantida sob agitação, a uma temperatura de 30 °C e ao abrigo da luz, à qual foi adicionado o oxidante, H₂O₂ 30 % (m/m) diluído em acetonitrilo (1:10), em intervalos regulares de 15 minutos. As reacções foram acompanhadas por análise de GC-FID, usando *n*-octano como padrão interno, tendo sido dadas por terminadas após os rendimentos dos produtos permanecerem constantes em duas análises sucessivas.

Foram retiradas alíquotas de 1 μ L da mistura reaccional, a cada 15 minutos, que foram injectadas directamente no injectador do aparelho de GC-FID. Na Tabela 5 encontram-se as condições cromatográficas usadas na análise por GC-FID.

Tabela 5: Programa de temperatura do cromatógrafo de gás para a análise da reacção de oxidação do *cis*-cicloocteno.

Parâmetros	<i>cis</i> -cicloocteno
Temperatura inicial	80 °C (1 min)
Rampa de velocidade do aumento da temperatura	20 °C/min
Temperatura final	200 °C (2 min)
Temperatura do detector	230 °C
Temperatura do injector	220 °C

As percentagens dos compostos na mistura reaccional foram estimadas directamente a partir das áreas dos picos correspondentes, usando *n*-octano como padrão interno.

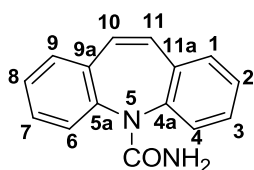
3.4.2 Oxidação da carbamazepina (6)

Num balão de fundo redondo de 25 mL, colocaram-se o substrato (0,1 mmol), o catalisador (variável de acordo com a razão molar Sub/Cat a utilizar) e o co-catalisador (acetato de amónio, cerca de 15 mg) em acetonitrilo com o qual se fez um volume final de 2 mL. A solução foi mantida sob agitação, a uma temperatura de 30 °C e ao abrigo da luz, à qual foi adicionado o oxidante, 0,5 eq. H₂O₂ 30 % (m/m) diluído em acetonitrilo (1:5), em intervalos regulares de 15 minutos. As reacções foram acompanhadas por TLC, tendo sido dadas por terminadas quando o substrato tinha sido completamente oxidado e já não surgia no TLC, ou quando não se observavam alterações na conversão.

No final da reacção, efectuou-se um espectro de UV-Vis para verificar o estado do catalisador.

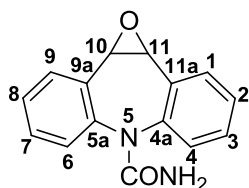
As misturas reaccionais foram sujeitas a uma lavagem com água, extraídas com CH_2Cl_2 , passadas por sulfato de sódio anidro e evaporadas até à secura, à temperatura ambiente e a pressão reduzida, antes de serem analisadas por RMN.

Procedeu-se novamente à reacção de oxidação com o catalisador $\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}$ para uma razão molar Sub/Cat 150, tendo sido analisadas de 15 em 15 minutos por HPLC com o eluente $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (30:70) e $\lambda = 215 \text{ nm}$, à temperatura ambiente.



Carbamazepina (6)

RMN de ^1H δ (ppm): 4,48 (2H, s-largo, CONH_2); 6,95 (2H, s, H-10 e H-11); 7,26-7,50 (8H, m, H-1, H-2, H-3, H-4, H-6, H-7, H-8, H-9).



Epóxido da carbamazepina (9)

RMN de ^1H δ (ppm): 4,28 (2H, s, H-10 e H-11); 4,60 (2H, s largo, CONH_2); 7,50 (2H, d, $J = 7,31 \text{ Hz}$, H-4 e H-6); 7,31-7,42 (6H, m, H-1, H-2, H-3, H-7, H-8, H-9).

3.4.3 Oxidação da cafeína (7)

Num balão de fundo redondo de 25 mL, colocaram-se o substrato (0,1 mmol), o catalisador com a razão molar Sub/Cat 50 e o co-catalisador (acetato de amónio, $\approx 15 \text{ mg}$) em acetonitrilo com o qual se fez um volume final de 2 mL. A solução foi mantida sob agitação, a uma temperatura de 30°C e ao abrigo da luz, à qual foram adicionados 0,5 equivalentes do oxidante, H_2O_2 30 % (m/m) diluído em acetonitrilo (1:5), em intervalos regulares de 15 minutos. As reacções foram acompanhadas por TLC, tendo sido dadas por terminadas quando não se observava alterações no TLC. No final da reacção, efectuou-se um espectro de UV-Vis para verificar o estado do catalisador. As misturas reaccionais

foram sujeitas a uma lavagem com água, extraídas com CH_2Cl_2 , passadas por sulfato de sódio anidro e evaporadas até à secura. Posteriormente, foi realizada uma cromatografia por TLC preparativo, com eluente clorofórmio/5% metanol para separar os vários produtos. O eluente foi previamente passado por uma coluna de alumina.

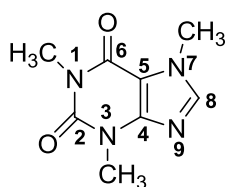
As reacções foram ainda acompanhadas por GC-FID e GC-MS. Na Tabela 6 encontram-se as condições cromatográficas usadas na análise por GC-FID e GC-MS.

Tabela 6: Programa de temperatura do cromatógrafo de gás para análise da reacção de oxidação da cafeína.

Parâmetros	cafeína
Temperatura inicial	60 °C (0 min)
Rampa de velocidade do aumento da temperatura	10 °C/min
Temperatura final	270 °C (5 min)
Temperatura do detector	270 °C
Temperatura do injector	250 °C

As conversões da cafeína foram determinadas por HPLC, tendo-se usado o eluente $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (15:85) e o $\lambda = 235$ nm, à temperatura ambiente.

Cafeína (7)



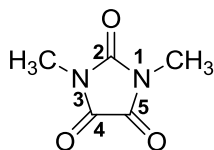
RMN de ^1H δ (ppm): 3,42 (3H, s, 1-N- CH_3); 3,59 (3H, s, 3-N- CH_3); 4,00 (3H, s, 7-N- CH_3); 7,51 (1H, s, H-8).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 27,9 (1-N- CH_3); 29,7 (3-N- CH_3); 33,6 (7-N- CH_3); 107,6 (C-5); 141,4 (C-8); 148,7 (C-4); 151,7 (C-2); 155,4 (C-6).

EM (EI) m/z (abundância relativa %):⁹¹ 194 (M^+ , 100); 193 (15); 142 (8); 141 (14); 109 (25); 82 (7); 70 (6); 67 (10); 56 (9); 55 (9).

1,3-Dimetilimidazolidina-2,4,5-triona (10)⁹¹

(Ácido dimetilparabânico)

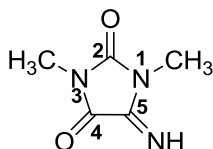


RMN de ¹H δ (ppm): 3,18 (6H, s, 1-N-CH₃).

RMN de ¹³C δ (ppm): 25,0 (1-N-CH₃ e 3-N-CH₃); 154,0 (C-2); 156,9 (C-4 e C-5).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 142 (M⁺, 100); 114 (8); 70 (10); 58 (30); 57 (17); 56 (19).

5-Imino-1,3-dimetilimidazolidina-2,4-diona (13)

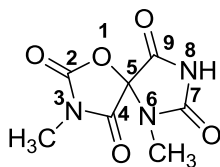


RMN de ¹H δ (ppm): 3,14 (3H, s, 3-N-CH₃); 3,23 (3H, s, 1-N-CH₃); 8,83 (1H, s, N-H).

RMN de ¹³C δ (ppm): 24,9 (3-N-CH₃); 25,5 (1-N-CH₃); 153,0 (C-5); 154,8 (C-2); 156,6 (C-4).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 141 (M⁺, 100); 113 (2); 70 (6); 69 (4); 58 (7); 57 (5); 56 (51); 55 (16).

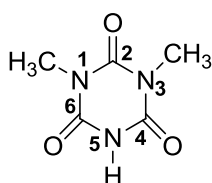
3,6-Dimetil-1-oxa-3,6,8-triaza-espiro[4,4]nonano-2,4,7,9-tetraona (14)



RMN de ¹H δ (ppm): 2,91 (3H, s, 6-N-CH₃); 3,23 (3H, s, 3-N-CH₃).

RMN de ¹³C δ (ppm): 25,4 (6-N-CH₃); 27,1 (3-N-CH₃); 91,0 (C-5); 152,1 (C-2); 154,0 (C-7); 163,1 (C-9); 164,1 (C-4).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 129 (M⁺, 100); 128 (20); 100 (9); 70 (14); 69 (14); 58 (20); 57 (24); 56 (12).



1,3-Dimetil-1,3,5-triazina-2,4,6-triona (12)⁹¹

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 157 (M^{+} , 100); 129 (7); 128 (11); 113 (3); 100 (3); 70 (11); 58 (22); 56 (15); 44 (4).

3.4.4 Síntese da imidazolidina (13) a partir do ácido dimetilparabânico (10)

Num balão de fundo redondo de 25 mL, colocaram-se o ácido dimetilparabânico (**10**) (0,1 mmol), o catalisador com a razão molar Sub/Cat 50 e o co-catalisador (acetato de amónio, ≈ 15 mg) em acetonitrilo com o qual se fez um volume final de 2 mL. A solução foi mantida sob agitação, a uma temperatura de 30 °C e ao abrigo da luz, à qual foram adicionados 0,5 equivalentes do oxidante, H_2O_2 30% (m/m) diluído em acetonitrilo (1:5), em intervalos regulares de 15 minutos. A reacção foi acompanhada por GC.

3.5 Considerações finais

Neste trabalho, foi estudada a oxidação catalítica da carbamazepina e da cafeína com peróxido de hidrogénio, em condições suaves e usando acetato de amónio como co-catalisador. Utilizaram-se dois catalisadores em fase homogénea, os complexos $Mn(TDCPP)Cl$ e $Mn(TPFPP)Cl$, e determinou-se a percentagem de conversão dos substratos e a selectividade nas espécies resultantes da oxidação.

Na oxidação da carbamazepina, para todas as razões molares Sub/Cat testadas, a conversão da carbamazepina no respectivo epóxido é elevada e a selectividade é sempre superior a 99 % para o epóxido (**9**). Por comparação com os trabalhos descritos na literatura, foram utilizadas razões molares Sub/Cat superiores e obtiveram-se, na maioria dos casos, conversões melhores. O oxidante usado foi o peróxido de hidrogénio que é um oxidante mais seguro para o ambiente. No trabalho descrito por Faria e colaboradores foi usada também a $Mn(TPFPP)Cl$ e peróxido de hidrogénio como oxidante, contudo

obtiveram um rendimento muito baixo para o epóxido (13%). Nas nossas condições usando o mesmo catalisador e oxidante foram obtidos melhores resultados.

Neste trabalho, foi ainda estudada pela primeira vez a oxidação da cafeína usando calalísadores porfirínicos. Foram caracterizados quatro produtos, potenciais metabolitos da cafeína: o ácido dimetilparabânico (**10**) e o composto (**12**) que já se encontram descritos em processos de oxidação; a imidazolidina (**13**); o composto espiro (**14**) que além de não se encontrar descrito na literatura em processos de oxidação é um composto novo. A conversão é praticamente total em quase todas as razões molares testadas. A selectividade é diferente nos dois catalisadores usados. Quando se utiliza o complexo Mn(TPFPP)Cl, obtém-se um produto principal, o ácido dimetilparabânico (**10**); quando se utiliza o complexo Mn(TDCPP)Cl, obtém-se como produto maioritário o composto espiro (**14**). A imidazolidina (**13**) deverá resultar da reacção do ácido dimetilparabânico (**10**) com o acetato de amónio presente no meio reaccional, como foi demonstrado.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- 1 L. R. Milgrom em *The colours of Life: an Introduction to the Chemistry of Porphyrins and Related Compounds*; Oxford University Press: Oxford, **1997**.
- 2 K. M. Smith em *Porphyrins and Metalloporphyrins*; Elsevier: Amesterdão, **1975**.
- 3 C. M. B. Carvalho, Tese de mestrado, Universidade de Aveiro, **2007**.
- 4 S. M. G. Pires, Tese de mestrado, Universidade de Aveiro, **2008**.
- 5 T. R. Janson, J. J. Katz em *The Porphyrins: Physical Chemistry-Part B*, D. Dolphin (Ed.), Academic Press, Nova Iorque, **1978**, Vol. 4, Cap.1.
- 6 M. A. F. Faustino, Tese de doutoramento, Universidade de Aveiro, **1999**.
- 7 K. M. Smith em *The Porphyrin Handbook*; K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds), Academic Press, Nova Iorque, **2000**, Vol. 1, Cap. 1.
- 8 J. S. Lindsey em *The Porphyrin Handbook*; K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds), Academic Press: Nova Iorque, **2000**, Vol.1, Cap. 2.
- 9 P. Rothmund, *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, 58, 625.
- 10 A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff, *J. Org. Chem.*, **1967**, 32, 476.
- 11 G. H. Barnett, M. F. Hudson, K. M. Smith, *J. Chem. Soc. Perkin T1*, **1975**, 1401.
- 12 A. M. d'A. R. Gonsalves, M. M. Pereira, *J. Heterocycl. Chem.*, **1985**, 22, 931.
- 13 J. S. Lindsey, I. C. Schreiman, H. C. Hsu, P. C. Kearney, A. M. Marguerettaz, *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, 827.
- 14 J. S. Lindsey, K. A. MacCrum, J. S. Tyhonas, Y. Y. Chuang, *J. Org. Chem.*, **1994**, 59, 579.
- 15 A. M. d'A. R. Gonsalves, J. M. T. B. Varejão, M. M. Pereira, *J. Heterocycl. Chem.*, **1991**, 28, 635.
- 16 M. R. Kishan, V. R. Rani, M. R. V. S. Murty, P. S. Devi, S. J. Kulkarni, K. V. Raghavan, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2004**, 223, 263.

- 17 F. Langa, P. de la Cruz, *Comb. Chem. High Throughput Screen*, **2007**, *10*, 766.
- 18 D. Samaroo, C. E. Soll, L. J. Todaro, C. M. Drain, *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 4985.
- 19 A. Petit, A. Loupy, P. Maillard, M. Momenteau, *Synth. Commun.*, **1992**, *22*, 1137.
- 20 S. M. S. Chauhan, B. B. Sahoo, K. A. Srinivas, *Synth. Commun.*, **2001**, *31*, 33.
- 21 B. F. O. Nascimento, M. Pineiro, A. M. A. R. Gonsalves, M. R. Silva, A. M. Beja, J. A. Paixão, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2007**, *11*, 77.
- 22 R. De Paula, M. A. F. Faustino, D. C. G.A. Pinto, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Heterocycl. Chem.*, **2008**, *45*, 453.
- 23 M. G. McKay, T. Cwele, H.B. Friedrich, G. E. M. Maguire, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7* 3958.
- 24 R. De Paula, Tese de Doutorado, Universidade de Aveiro, **2009**.
- 25 R. K. Pandey, G. Chang em *The Porphyrin Handbook*, K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guillard (Eds), Academic Press, Nova Iorque, **2000**, Vol. 6.
- 26 A. Tsuda, A. Osuka, *Adv. Mater.*, **2002**, *14*, 75.
- 27 J. A. A. W. Elemans, R. van Hameren, R. J. M. Nolte, A. E. Rowan, *Adv. Mater.*, **2006**, *18*, 1251.
- 28 M. J. F. Calvete, D. Dini, S. R. Flom, M. Hanack, R. G. S. Pong, J. S. Shirk, *Eur. J. Org. Chem.*, **2005**, 3499.
- 29 M. J. F. Calvete, G. Y. Yang, M. Hanack, *Synthetic Met.*, **2004**, *141*, 231.
- 30 S. J. Lee, J. T. Hupp, *Coord. Chem. Rev.*, **2006**, *250*, 1710.
- 31 R. Purrello, S. Gurrieri, R. Lauceri, *Coord. Chem. Rev.*, **1999**, *683*, 190-192.
- 32 Q. M. Wangt, D. W. Bruce, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 76414.
- 33 C. Arunkumar, P. Bhyrappa, B. Varghese, *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 8033.
- 34 V. Carré, O. Gaud, I. Sylvain, O. Bourdon, M. Spiro, J. Blais, R. Granet, P. Krausz, M. J. Guilloton, *Photochem. Photobiol.*, **1999**, *48*, 57.
- 35 J. F. Friedberg, C. Skema, E. D. Baum, J. Burdick, S. A. Vinogradov, D. F. Wilson, A. D. Horan, I. J. Nachamkin, *Antimicrobiol. Chemother.*, **2001**, *48*, 105.

- 36** T. G. M. Smijs, R. N. S. van der Haas, J. Lugtenburg, Y. Liu, R. L. P. Jong, H. J. Schuitmaker, *Photochem. Photobiol.*, **2004**, *80*, 197.
- 37** C. A. Rebeiz, J. A. Juvik, C. C. Rebeiz, C. E. Bouton, L. J. Gut, *Pest. Biochem. Phys.* **1990**, *36*, 201.
- 38** C. M. B. Carvalho, A. T. P. C. Gomes, S. C. D. Fernandes, A. C. B. Prata, M. A. Almeida, M. A. Cunha, J. P. C. Tomé, M. A. F. Faustino, M. G. P. M. S. Neves, A. C. Tomé, J. A. S. Cavaleiro, Z. Lin, J. P. Rainho, J. Rocha, *J. Photochem. Photobiol.*, **2007**, *88*, 112.
- 39** L. Costa, E. Alves, C. M. B. Carvalho, J. P. C. Tomé, M. A. F. Faustino, M. G. P. M. S. Neves, A. C. Tomé, J. A. S. Cavaleiro, A. Cunha, A. Almeida, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2008**, *7*, 415.
- 40** R. Bonnett em *Chemical Aspects of Photodynamic Therapy*; Gordon and Breach Science Publishers, Amesterdão, **2000**.
- 41** A. P. J. Maestrin, A. O. Ribeiro, A. C. Tedesco, C. R. Neri, F. S. Vinhado, O. A. Serra, P. R. Martins, Y. Iamamoto, A. M. G. Silva, A. C. Tomé, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Braz. Chem. Soc.*, **2004**, *15*, 923.
- 42** G. Jori em *Photosensitizing Compounds: Their Chemistry, Biology and Clinical Use*, Wiley, Chichester, **1989**.
- 43** K. B. Trauner, T. Hasan, *Photochem. Photobiol.*, **1996**, *64*, 740.
- 44** Z. Malik, H. Ladan, B. Ehrenberg, Y. Nitzan em *Photodynamic Therapy: Basic Principles and Clinical Applications*, Nova Iorque, **1992**.
- 45** E. Ben-Hur, B. Horowitz, *Photochem. Photobiol.*, **1995**, *62*, 383
- 46** R. D. Levere, Y. G. Gong, A. Kappas, D. J. Bucher, G. P. Wormser, N. G. Abraha, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1991**, *88*, 1756.
- 47** M. N. Esfahani, M. Montazerozohori, P. Akhlaghi, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **2009**, *30*, 1583.
- 48** E. A. Karakhanov, A. L. Maksimov, E. A. Ivanova, *Russ. Chem. Bull*, **2007**, *56*, 621.
- 49** S. I. Murahashi, D. Zhang, *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, *37*, 1490.

- 50** W. Lohmann, U. Karst, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, 391, 79.
- 51** J. Bernadou, B. Meunier, *Adv. Synth. Catal.*, **2004**, 346, 171.
- 52** D. Mansuy, *C. R. Chimie*, **2007**, 10, 392.
- 53** C. Bochot, J. F. Bartoli, Y. Frapart, P. M. Dansette, D. Mansuy, P. Battioni, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2007**, 263, 200.
- 54** A. J. B. Melo, Y. Iamamoto, A. P. J. Maestrin, J. R. L. Smith, M. D. Santos, N. P. Lopes, P. S. Bonato, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2005**, 226, 23.
- 55** J. Hartmann, P. Bartels, U. Mau, M. Witter, W. van Tümpling, J. Hofmann, E. Nietzschmann, *Chemosphere*, **2008**, 70, 453.
- 56** S. Othman, V. M. Mouries, C. Bensoussan, P. Battioni, D. Mansuy, *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, 3, 751.
- 57** M. C. A. F. Gotardo, L. A. B. de Moraes, M. D. Assis, *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, 54, 10011.
- 58** M. D. Santos, P. R. Martins, P. A. Santos, R. Bortocan, Y. Iamamoto, N. P. Lopes, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2005**, 26, 62.
- 59** T. C. O. Mac Leod, A. L. Faria, V. P. Barros, M. E. C. Queiroz, M. D. Assis, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2008**, 296, 54.
- 60** W. Lohmann, U. Karst, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, 391, 79-96.
- 61** R. R. L. Martins, M. G. P. M. S. Neves, A. J. D. Silvestre, M. M. Q. Simões, A. M. S. Silva, A. C. Tomé, J. A. S. Cavaleiro, P. Tagliatesta, C. Crestini, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2001**, 172, 33.
- 62** S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2003**, 201, 9.
- 63** S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, *Chem. Commun.*, **2004**, 608.
- 64** S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, A. F. Peixoto, M. M. Pereira, M. R. Silva, J. A. Paixão, A. M. Beja, *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 4778.

- 65** F. S. Vinhado, M. E. F. Gandini, Y. Iamamoto, A. M. G. Silva, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, A. C. Tomé, S. L. H. Rebelo, A. M. V. M. Pereira, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2005**, 239, 138.
- 66** S. L. H. Rebelo, M. M. Pereira, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Catal.*, **2005**, 234, 76.
- 67** S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, P. Tagliatesta, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2005**, 232, 135.
- 68** S. L. H. Rebelo, A. R. Gonçalves, M. M. Pereira, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2006**, 321.
- 69** R. de Paula, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *Catal. Commun.*, **2008**, 10, 57.
- 70** I. Chorkendorff, J.W. Niemantsverdriet em *Concepts of Modern Catalysis and Kinetics*, Wiley, Weinheim, **2003**.
- 71** J. E. Bäckvall em *Modern Oxidation Methods*, Wiley, Weinheim, **2004**.
- 72** a) D. Mansuy, P. Battioni em *The Porphyrin Handbook*, K. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds), Academic Press, Nova Iorque, **2000**, Vol 4. b) J. T. Groves, K. Shalyaev, J. Lee em *The Porphyrin Handbook*, K. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds), Academic Press, Nova Iorque, **2000**, Vol 4. c) B. Meunier, A. Robert, G. Pratviel, J. Bernadou em *The Porphyrin Handbook*, K. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds), Academic Press, Nova Iorque, **2000**, Vol 4.
- 73** S. Bhaduri, D. Mukesh em *Homogeneous Catalysis: Mechanisms and Industrial Applications*, Wiley, Nova Iorque, **2000**.
- 74** S. L. H. Rebelo, Tese de Doutorado, Universidade de Aveiro, **2004**.
- 75** P. R. O de Montellano em *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*, 3rd Ed, Plenum Publishing, Nova Iorque, **2005**.
- 76** R. D. Arasasingham, G. X. He, T. C. Bruice, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 7985.
- 77** D. Dolphin, T. G. Traylor, L. Y. Xie, *Acc. Chem. Res.*, **1997**, 30, 251.
- 78** M. M. Q. Simões, R. De Paula, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Porphyrins Phthalocyanines*, **2009**, 13, 589.
-

- 79 F. R. Longo, M. G. Finarelli, J. B. Kim, *J. Heterocycl. Chem.*, **1969**, 6, 927.
80. Adler, A. D., Longo, F. R., Kampas F., L., *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1970**, 32, 2443.
- 81 Y. Liu, H. J. Zhang, Y. Q. Cai, H. H. Wu, X. L. Liu, Y. Lu, *Chem. Lett.*, **2007**, 36, 848.
- 82 I. Bernus, W.D. Hooper, R.G. Dickinson, M. J. Eadie, *Epilepsy Res.*, **1995**, 21, 65.
- 83 I. Bernus, R. G. Dickinson, W. D. Hooper, M. J. Eadie, *Epilepsy Res.*, **1996**, 24, 163.
- 84 A. L. Faria, T. C. O. Mac Leod, M. D. Assis, *Catal. Today*, **2008**, 133, 863.
- 85 J. Bernadou, A. S. Fabiano, A. Robert, B. Meunier, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, 116, 9375.
- 86 G. Fisone, A. Borgvist, A. Usiello, *Cell Mol. Life Sci.*, **2004**, 61, 857.
- 87 M. Kot, W. A. Daniel, *Biochem. Pharm.*, **2008**, 76, 543.
- 88 C. L. Yu, T. M. Louie, R. Summers, Y. Kale, S. Gopishetty, M. Subramanian, *J. Bacteriolog.*, **2009**, 194, 4624.
- 89 K. Morita, Y. Maeda, M. Masuda, A. Kazusaka, S. Imaoka, Y. Funae, S. Fujita, *Biochem. Pharm.*, **1998**, 55, 1405.
- 90 M. S. Caubet, B. Comte, J. L. Brazier, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2004**, 33, 379.
- 91 K. J. Kolonko, R. H. Shapiro, R. Barkley, R. E. Sievers, *J. Org. Chem.*, **1979**, 44, 3769.
- 92 I. Dalmázio, L. S. Santos, R. P. Lopes, M. N. Eberlin, R. Augusti, *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, 39, 5982.
- 93 H. Budzikiewicz, C. Djerassi, D. H. Williams em *Mass Spectrometry of Organic Compounds*, Holden-Day, São Francisco, **1967**.
- 94 R. W. Hanson, *J. Chem. Educ.*, **1987**, 64, 591.